FACULTE MIXTE
DE
MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

N° 1

Glycolyse et fermentation du glucose par les levures dans le sang total

THÈSE

PRÉSENTÉE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE

DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE

ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Le janvier 1944

PAR

Marie-Louise DÉTIEUX

ANCIEN PRÉPARATEUR AU LABORATOIRE DE CHIMIE BIOLOGIQUE

née le 15 Octobre 1918 à Hanoï

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Examinateurs de la Thèse

MM. J. ROCHE, *Professeur, Président.*
NICLOUX, *Prof. Fac. Méd. Strasbourg.*
MAURIN, *Professeur.*
DUBOULOZ, *Professeur.*

Assesseurs.

LONS-LE-SAUNIER
MAURICE DECLUME, IMPRIMEUR-ÉDITEUR.

1944

FACULTE MIXTE
DE
MEDECINE GÉNERALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

N°

Glycolyse et fermentation du glucose par les levures dans le sang total

THÈSE

PRÉSENTÉE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE

DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE

ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Le janvier 1944

PAR

Marie-Louise DÉTIEUX

ANCIEN PRÉPARATEUR AU LABORATOIRE DE CHIMIE BIOLOGIQUE

née le 15 Octobre 1918 à Hanoï

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Examinateurs de la Thèse { MM. J. ROCHE, *Professeur, Président.*
NICLOUX, *Prof. Fac. Méd. Strasbourg.*
MAURIN, *Professeur.*
DUBOULOZ. *Professeur.* } *Assesseurs.*

LONS-LE-SAUNIER
MAURICE DECLUME, IMPRIMEUR-ÉDITEUR.

1944

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547003_0055

PERSONNEL DE LA FACULTÉ MIXTE

DE

MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Doyen : Lucien CORNIL *Assesseur :* F. MERCIER

Doyen honoraire : L. IMBERT

Professeurs honoraires : MOITESSIER, CASSOUTE
OLMER, GAUJOUX, COTTE, AUBARET

Chargé de cours honoraire : TIAN.

Secrétaire : J. COMTE *Bibliothécaire :* Mme PEROL.

Professeurs :

Anatomie	N...
Anatomie pathologique et Pathologie expérimentale	CORNIL
Bactériologie	ROUSLACROIX
Chimie analytique et hydrologie	RIMATTEI
Chimie médicale	ROCHE
Clinique chirurgicale	FIOLLE
Clinique chirurgicale	BOURDE
Clinique exotique	HECKENROTH
Clinique des maladies nerveuses	ROGER
Clinique médicale	AUDIBERT
Clinique médicale	MONGES
Clinique médicale	MATTEI
Clinique médicale infantile	GIRAUD
Clinique obstétricale	VAYSSIÈRE
Clinique ophtalmologique	JAYLE
Clinique Oto-Rhino-Laryngologique	BREMOND
Clinique urologique	CHAUVIN
Histoire naturelle	N...
Histologie	ROMIEU
Hygiène générale et coloniale	VIOLLE
Médecine légale	MOSINGER
Parasitologie	JOYEUX
Pathologie chirurgicale	MOIROUD
Pharmacodynamie et matière médicale	MERCIER
Pharmacie	VIGNOLI
Physiologie	MORIN
Physique	CHEVALLIER
Thérapeutique	POINSO
Professeur sans chaire	POURSINES
Professeur sans chaire	DUBOULOZ
Professeur sans chaire	SAUTET

Chargés de cours :

Clinique dermatologique ..... VIGNE
Hydrologie clinique et thérapeutique ..... PIERI

Agrégés en exercice :

MM. BERTHIER	MM. CHOSSON	MM. AUDIER
BALANSARD	DELPHAUT	DOR
BRAHIC	R. IMBERT.	RECORDIER
FIGARELLA	PAILLAS	SALMON
ARNOUX		

Chargés des fonctions d'agrégé :

Chimie médicale ..... DERRIEN
Physiologie ..... DONNET
Physique ..... ROUX

Chargés de Cours complémentaires :

Anatomie descriptive et topographique ..... SALMON
Chimie minérale ..... ARNOUX
Chimie organique ..... DUMAZERT
Clinique de la tuberculose ..... BERTHIER
Clinique des maladies contagieuses ..... PERIOT
Clinique chirurgicale infantile ..... R. IMBERT
Clinique stomatologique ..... ACHARD
Clinique gynécologique ..... FIGARELLA
Médecine opératoire ..... DOR
Microbiologie (Pharmacie) ..... BOYER
Neuro-Chirurgie ..... ARNAUD
Obstétrique ..... CHOSSON
Pharmacodynamie (Pharmacie) ..... DELPHAUT
Psychiatrie ..... ALLIEZ
Toxicologie ..... GUILLOT

JE DÉDIE AFFECTUEUSEMENT CE TRAVAIL
A LA CHÈRE MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

en témoignage de ma profonde tendresse et de ma reconnaissance.

A MES FRÈRES ET SŒUR

avec toute mon affection.

A Madame le Docteur A. ROCHE

in memoriam

A mon Maître

Monsieur le Professeur J. ROCHE

qu'il trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance et de ma respectueuse admiration.

A Monsieur le Professeur NICLOUX

en hommage respectueux.

A Monsieur le Docteur Christian DUMAZERT

toute ma reconnaissance pour l'aide qu'il m'a apportée dans l'accomplissement de ce travail.

A MON JURY DE THÈSE

A MES CAMARADES DU LABORATOIRE
DE CHIMIE BIOLOGIQUE

MEIS ET AMICIS

INTRODUCTION

En raison même de leur importance comme source d'énergie, les glucides sont l'un des principaux objets d'étude de la biochimie. On les rencontre communément chez tous les êtres vivants. Les végétaux verts, sous l'action de la lumière, en font la synthèse, à partir du gaz carbonique de l'air et de l'eau, grâce à leur tissu chlorophyllien. Utilisés comme éléments de nutrition et de soutien (cellulose) ils sont aussi accumulés en réserves abondantes sous forme d'amidon, inuline et entrent dans la composition de corps importants tels que les glucosides dont on ne peut dire si ce sont des produits de réserve, des produits de sécrétion ou des métabolites.

Les réserves végétales constituent elles-mêmes le principal aliment glucidique des animaux. C'est aussi à des glucides qu'aboutissent certaines transformations métaboliques des lipides et des protides et l'oxydation des glucides est une des principales sources de l'énergie nécessaire à la vie cellulaire. La synthèse de différents oses, en particulier du glucose, est facilement réalisée par l'animal à partir de ces diverses chaînes carbonées et leur stockage s'opère dans le foie sous forme de glycogène. C'est par glycogénolyse que le glucose nécessaire à l'entretien de la vie est sans cesse libéré. Dégradation et synthèse permanentes établissent donc dans l'organisme un véritable équilibre dynamique. Nous comprenons dès lors toute l'importance que peut présenter leur existence dans un « milieu intérieur » comme le sang qui, baignant les organes et les tissus, traduit par sa teneur en glucides, l'état de cet équilibre.

I. — *LES GLUCIDES DU SANG.*

Cl. Bernard [4], Pavy, ont montré les premiers la présence de substances glucidiques libres dans le sang, et essayé de déterminer leur nature. De nombreux travaux ont, par la suite, révélé la présence d'une deuxième fraction de glucides : les sucres combinés du sang libérables par hydrolyse acide. Nous verrons qu'en raison de sa participation au métabolisme des glucides, cette dernière fraction est très importante.

A. — **Sucre libre.** — Le sucre libre est constitué par du glucose. Il y a peu d'années encore, les preuves n'en étaient pas très formelles. Bien après les travaux de Cl. Bernard, Fischer [36] par la découverte des osazones, met au point un nouveau procédé permettant l'identification des glucides. Ce procédé mis à profit par plusieurs chimistes, entre autres Pichardt [80] et Miura [68], limite les recherches à la présence de glucose, de fructose, de mannose et de glucosamine, qui, tous quatre, donnent la même osazone. D'autres biologistes entreprennent l'étude simultanée des pouvoirs réducteur et rotatoire ; mais ces recherches amènent à des conclusions contradictoires. Certains d'entre eux, comme Hédon [44] opérant sur un dyalisat sanguin, trouvent pour les glucides une valeur bien plus grande par réduction de la liqueur de Fehling, que celle obtenue par polarimétrie ; ces valeurs ne correspondraient donc pas au même ose ou oside. Lépine [55] confirme ces résultats. Par contre Hanriot [43] opérant sur des filtrats de déprotéinisation sanguins trouve des valeurs concordantes pour les pouvoirs réducteur et rotatoire, la valeur de ce dernier étant celle de l'équilibre des formes α et β du glucose correspondant au glucose ε.

En 1930, L. B. Winter [96] isole du sang un produit cristallisé dont tous les caractères physiques et

chimiques sont ceux de l'α-glucopyranose. Il en fait l'analyse élémentaire, en détermine le poids moléculaire, l'activité optique, obtient la phényl glucosazone, et le β-pentaacétate du glucose. Mais le procédé exige de très nombreuses manipulations et l'on peut se demander si l'on est bien en présence dans le sang, d'α glucopyranose ainsi caractérisé, ou si ces manipulations n'ont pas modifié la forme sous laquelle le glucide libre circule avec le sang. Malgré cet important résultat, le désaccord existant entre les pouvoirs rotatoire et réducteur d'un même dyalisat sanguin laisse encore supposer la possibilité de plusieurs constituants de la glucidémie libre. Par ailleurs une déprotéinisation très satisfaisante du sang n'ayant pas encore été réalisée à cette époque, des erreurs dans la valeur du pouvoir réducteur ou rotatoire pouvaient provenir de la présence de substances non glucidiques mais optiquement actives dans les filtrats de déprotéinisation soumis à la mesure de ce pouvoir réducteur.

D'après Thomas [91] cette hypothèse est à rejeter du fait qu'après fermentation par la levure, le pouvoir rotatoire et le pouvoir réducteur qui subsistent sont trop faibles pour expliquer les phénomènes observés avant fermentation des dialysats sanguins. Par contre cet auteur a montré [92] que les dialysats sanguins présentent d'importantes variations de leurs propriétés optiques en fonction du pH, mais que ces dernières ne peuvent être attribuées à l'action de substances interférentes, telles qu'acides aminés, acide lactique, car leur grandeur dépasse de beaucoup celle des variations que présenteraient ces corps dans les mêmes limites de pH.

Cependant il était très important pour obtenir une valeur exacte du pouvoir réducteur du sang, de déterminer les substances réductrices non glucidiques dont l'ensemble constitue le « reste de fermentation ». Elles peuvent être azotées, sulfurées ou phosphorées (J. Roche [84]). De nombreux travaux leur ont été consacrés par

différents auteurs, tels que Van Slyke, Hiller et Linder, Somogyi, Blanco et Raymond, Bigwood et Vuillot, Fontès et Thivolle, Ege et J. Roche ; mais leurs résutats sont souvent en désaccord. Cela tient essentiellement aux diverses méthodes de dosage qui ont été employées pour mesurer le pouvoir réducteur du sang après fermentation, soit par réduction cuivrique, soit par le ferricyanure de potassium. Toutes ces méthodes mettent en évidence l'importance primordiale de la défécation. L'emploi de l'hydrate de zinc ou de l'acide tungstique se montre plus ou moins efficace suivant la méthode de dosage utilisée et aussi suivant la quantité de levure ajoutée au sang, ainsi que l'ont fait ressortir R. Ege et J. Roche [31].

Reprenant les travaux antérieurs de Fujita et Iwatake [40], C. Dumazert [23] en employant l'hydrate de cadmium comme agent de déprotéinisation a permis un dosage direct de la « glycémie vraie ». En effet l'usage de ce réactif permet d'éliminer totalement des filtrats le « reste de fermentation ». Il a pu par la suite, avec G. Penet [24] utiliser avec succès la fermentation alcoolique pour confirmer que le sucre libre du sang est du glucose et qu'il en est le seul constituant. Cette étude ne saurait être complète que si l'on parvient à montrer que l'alcool formé correspond quantitativement à la glycémie vraie. C'est à ce résultat que sont parvenus Dumazert et Penet [24] apportant ainsi des données concluantes sur la nature du sucre libre du sang. Ils entreprennent d'abord l'étude de la fermentation de plusieurs oses : le glucose, le galactose, le mannose, la glucosamine et de leurs mélanges. Ensuite, laissant fermenter le plasma sanguin en présence de levure de bière, ils montrent que la totalité du sucre libre subit *quantitativement* la fermentation à l'égal du glucose. Ils opèrent sur le plasma, ayant en effet constaté que le sang total en présence de levure de bière ne produisait pas ou peu d'alcool. Cette dernière observation a

retenu notre attention et il nous a paru intéressant de préciser le comportement des glucides dans de telles conditions. C'est ce à quoi nous nous sommes attachés au cours de nos recherches.

En résumé, s'il est prouvé que le sucre sanguin est du glucose, on ne sait encore sous quelle forme se trouve ce glucose dans le sang, glucopyranose, glucofuranose, ou encore une forme instable désignée sous le nom de néoglucose ou bioglucose (Winter et Smith, Lundsgaard et Holböll).

Le glucose se trouve dans le sang au taux sensiblement constant de 0,80 g. à 1 g. par litre chez l'homme normal à jeun. Cette constance est sous la dépendance de sécrétions hormonales, notamment d'insuline et d'adrénaline, dont les fonctions de régulation sont très importantes. En effet une certaine « tension » de glucose est nécessaire à la vie même des organes ; au-dessous d'un minimum donné surviennent des troubles graves, circulatoires, respiratoires, nerveux, telles les crampes hypoglycémiques que l'on peut provoquer par l'injection d'une quantité trop grande d'insuline. Une injection de glucose ou de mannose, entre autres, guérit la crise hypoglycémique.

Ce rôle du glucose est important à souligner, en plus du rôle énergétique qu'on lui attribue principalement.

B. — **Sucres combinés.** — Les glucides combinés quoique aussi importants que le sucre libre, ont donné lieu à moins de travaux ; leur nature comme leur rôle sont encore l'objet de nombreuses discussions.

C'est à un chimiste français, Braconnot, que l'on doit, en 1820, les premières recherches sur la dislocation des molécules protéiques par hydrolyse acide. Utilisant cette méthode, plusieurs chimistes trouvent dans de tels hydrolysats des substances glucidiques. C'est d'abord Lehmann [53] en 1855 qui emploie l'acide nitrique, puis Habermann et Hlasivetz en 1873, à l'aide de l'acide chlorhydrique. Des expériences semblables sont réalisées

par Lépine [55] en 1891 puis par Mörner [70] avec des résultats identiques. Pavy [77, 78] emploie l'acide chlorhydrique puis sulfurique. Il isole un corps qu'il nomme « amylose » puis croit à la présence d'isomaltose dans le sang. Abderhalden, Bergell et Dorpinghaus [1] isolent de la glucosamine à partir de la sérumglobuline hydrolysée par l'acide bromhydrique.

D'autres procédés ont également été employés pour cette étude. L'hydrolyse alcaline a été utilisée dans ce but par Schützenberger. Elle lui permet d'obtenir à partir de l'ovalbumine un corps qu'il appelle « amide cellulosique » et qui serait voisin de la cellulose. Il obtient d'autre part par hydrolyse acide, un corps réduisant la liqueur de Fehling et voit un « lien certain » entre ces deux faits.

Plus tard, Fränkel [37] à partir de l'albumine de l'œuf, obtient par hydrolyse acide un produit ayant des propriétés réductrices sur la liqueur de Fehling et qu'il nomme « albamin ». Il démontre que cet albamin a une constitution voisine de celle de la glucosamine. Reprenant plus tard ses travaux avec Jellinlk [38], il arrive à isoler du mannose et de la glucosamine. Signalons aussi les travaux de Langstein qui isole un produit voisin de « l'albamin » et qui donne de la glucosamine.

Lépine a consacré de très nombreux travaux à la question des sucres combinés aux protéines. Il distingue deux fractions différentes de sucres combinés, l'un fortement combiné, l'autre faiblement combiné qu'il appelle « sucre virtuel » donnant pour ce dernier des constitutions diverses au cours des nombreux travaux qu'il publie de 1891 à 1913. Il l'assimile d'abord à du glycogène, puis le considère comme un mélange de plusieurs pentoses, d'un glucide levogyre et de maltose [56], puis de deux produits de conjugaison de l'acide glycuronique [56], ensuite comme une sorte de glucoside dédoublable en partie par l'invertine et en totalité par

l'acide fluorhydrique [55]. « Sucre virtuel » écrit-il, veut dire sucre existant en puissance, ayant le pouvoir de servir immédiatement aux besoins de l'organisme ». En réalité, il n'a jamais défini exactement sa nature, et de nombreux physiologistes ont contesté son existence.

Les travaux de H. Bierry et de son école, par la suite, donnent des résultats plus précis. Ils montrent [6, 7] qu'on trouve toujours dans le sang des animaux, du sucre libre et un sucre réducteur combiné et libérable par hydrolyse, qu'ils appellent « sucre protéidique » [8, 9]. Ces auteurs considèrent le sucre protéidique comme étant un polyoside, formé de mannose, galactose et glucosamine en quantités équivalentes et caractérisés par des réactions spécifiques. Déjà avant Bierry, Z. Dische [18] avait caractérisé dans le sang des sucres combinés aux protéines dont il a identifié les oses constituants au mannose, à la glucosamine et au galactose.

Rimington [83] aboutit à des conclusions à peu près analogues à ceci près qu'il n'a jamais caractérisé le galactose parmi les produits de dédoublement du sucre protéidique, mais seulement du mannose et de la glucosamine.

L. F. Hewitt montre que certaines protéines du plasma sanguin seules sont riches en glucides, tandis qu'une autre fraction de protéines n'en contient pas. Il appelle « séroglycoïde » la fraction de la sérum albumine [46, 47] contenant les glucides, au taux de 8,5 p. 100, et qu'il identifie à un trisaccharide formé de glucosamine, galactose et mannose [45]. Il isole ensuite une globuline appelée « globoglycoïde », en raison de la présence dans sa molécule de 7,5 p. 100 d'un trisaccharide formé de galactose, de glucose et de glucosamine [48].

Bigwood et Vuillot [13] évaluent à 4 à 5 p. 1000 les taux du « sucre protéidique sanguin » mais c'est là un chiffre beaucoup trop élevé, dû probablement à l'emploi de la déprotéinisation zincique (Rimington) avant

de procéder au dosage des glucides réducteurs par la méthode de Hagedorn-Jensen. Etudiant l'action de la levure de bière [**14, 15**] sur les hydrolysats sanguins, ces auteurs trouvent qu'une partie des glucides combinés est fermentescible : elle représente, exprimée en glucose 0,3 à 0,4 g. p. 1000 cm^3 de sang.

Enfin C. Dumazert et Penet distinguent dans le sang deux fractions de sucres combinés [**25**] l'une libérable par les acides faibles (acétique) ou les acides forts très dilués, la seconde libérable seulement par un acide fort en solution normale (sulfurique). La première fraction présente une valeur assez faible, 0,20 à 0,5 p. 1000 pratiquement constante pour une espèce animale donnée, tandis que la deuxième fraction existe à un taux plus élevé, 1,5 g. à 3 g. p. 1.000 et très variable selon les individus. *Les variations notables de cette dernière sont absolument indépendantes de celles, très faibles, du sucre libérable par acétolyse, ce qui justifie la distinction de deux fractions.* Ces auteurs montrent que la fraction glucidique libérable par acétolyse est fermentescible et croient pouvoir l'identifier au « sucre virtuel » de Lépine.

D'après cette revue rapide, nous voyons que la nature du sucre protéidique prête encore à discussion. Mais il ne s'agirait pas, nous semble-t-il, d'un polyholoside unique comme différents auteurs l'ont pensé, et l'on doit plutôt envisager plusieurs fractions dans le sucre protéidique ainsi que l'a pensé Lépine. Cette dernière hypothèse est encore affirmée par les travaux de M. Sörensen [**90**]. Etudiant différentes protéines purifiées, cet auteur trouve des proportions relatives de glucides libérés après hydrolyse, très variables selon la protéine considérée, ainsi que le montrent les valeurs que nous rapportons : sérumglobuline purifiée : 1,7 p. 100 de glucosamine et 1,8 p. 100 de glucides non aminés (mannose + galactose) ; pour la sérumalbumine 0,37 p. 100 de glucosamine et 0,47 p. 100 d'hexoses. Ce sont là des quan-

tités de glucosamine plus grandes que celles correspondant au trisaccharide supposé par H. Bierry.

H. Bierry [5] s'est longuement attaché à l'étude du rôle du sucre protéidique qu'il reconnaît physiologiquement comme très important : il serait une véritable réserve utilisable par l'organisme à l'égal du glycogène. Sous l'influence de nombreuses hormones, insuline, thyroxine, adrénaline, extrait hypophysaire, cet auteur observe des variations souvent différentes de celles de la glycémie, mais dont la systématisation reste difficile.

Nous ne saurions omettre de mentionner ici un rôle nouveau de ces glucides, concernant leur activité immunologique, quoique bien des incertitudes subsistent encore à ce sujet, ainsi que le fait remarquer L. Velluz [93]. Il a été démontré depuis quelques années qu'il existe chez certaines bactéries des glucides spécifiques dont l'activité immunologique est certaine (Heidelberger, Avery). Du fait que les glucides sont des constituants normaux de nombreux protéides, Bierry [10] a suggéré que la spécificité des antigènes protéiques était dûe à cette fraction de leur molécule. Cette hypothèse ne peut avoir une valeur générale (Landsteiner [54]) du fait que plusieurs antigènes protéidiques se sont révélés exempts de copule glucidique. Les glucides protéidiques ont un rôle plus certain dans un autre domaine de la sérologie, celui des groupes sanguins, quant à leur différenciation. L'étude chimique a porté sur l'un des principes agglutinables contenu dans les hématies d'un groupe sanguin, le groupe A, principes dont plusieurs caractères sérologiques ont pu être retrouvés dans l'urine des individus de ce groupe (Yosida [97]). Or Freudenberg et Eickel [39] ont isolé de l'urine des sujets du groupe A un glucide azoté où se retrouvent les caractères spécifiques du groupe A. Il est donc vraisemblable que les glucides jouent un grand rôle dans ce domaine.

Enfin, par leurs combinaisons gluco-protéiques, les

glucides ont un rôle *plastique* de tout premier plan, étant les groupements prosthétiques des glucoprotéides plasmatiques.

Quant au sucre faiblement combiné, il apparaît que son rôle est plus direct dans le *métabolisme des glucides*. Il constituerait une réserve immédiatement utilisable pour les besoins de l'organisme, comme le « sucre virtuel » de Lépine. Des travaux récents de C. Dumazert et Hemmi [29] montrent en effet que le sucre faiblement combiné varie inversement à la glycémie libre sous l'action d'adrénaline ou d'insuline injectée au chien. Il participe donc probablement à la régulation de la glycémie. D'autre part ces travaux corroborent les résultats de J. Roche et Dumazert [85] sur les glucides combinés de l'hémolymphe de *Cancer Pagurus*. Ces auteurs ont constaté chez ce crustacé la présence de sucres faiblement combinés aux dépens desquels prend naissance l'hyperglycémie provoquée chez cet animal par un séjour prolongé à l'air. Dumazert et Penet [26] enfin ont montré que le sucre faiblement combiné participait à la glycolyse : sa disparition est alors simultanée de celle du glucose libre.

En résumé, il existe dans le sang, d'une part un glucide libre, constitué uniquement par du glucose ; d'autre part, des glucides combinés aux protéines et que l'état actuel des recherches ne permet encore de définir de façon précise. On peut y distinguer deux fractions essentielles : les sucres faiblement combinés (sucre virtuel de Lépine) et les sucres fortement liés aux protéines. Leur présence constante et leurs variations physiologiques leur font supposer un rôle important, que met encore en évidence l'étude d'un phénomène particulier, la glycolyse du sang, au cours de laquelle, les différents sucres subissent des variations notoires (Bierry et Kourislsky, Dumazert et Penet). Cependant, ces dernières intéressent surtout le sucre faiblement combiné ce qui montre le rôle particulièrement important que joue

cette fraction dans le métabolisme des glucides, rôle qui paraît conditionné par son extrême labilité. Par contre le sucre protéidique, en raison de sa grande stabilité, doit être considéré comme devant jouer essentiellement un rôle plastique. Il était important, de bien définir leur nature, avant d'entreprendre l'étude de la glycolyse.

II. — *LA GLYCOLYSE.*

La dégradation des glucides est réalisée biologiquement selon deux modes essentiels : d'une part, sous l'action de la levure de bière en anaérobiose, le sucre donne naissance à de l'alcool, d'autre part, dans le muscle ou dans le sang, sa disparition conduit à la formation d'acide lactique. Ces phénomènes sont beaucoup plus complexes qu'ils ne le paraissent au premier abord. La production d'alcool ou d'acide lactique est le résultat de nombreuses réactions intermédiaires qui leur sont en grande partie communes.

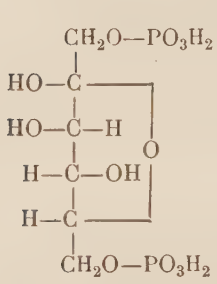
C'est la fermentation alcoolique qui a fourni les premières indications, les plus importantes, sur la dégradation des glucides. On a pensé ensuite que les différents processus de dégradation des sucres présentaient de grandes analogies, ce que l'expérience a confirmé. Nous allons donc donner un rapide schéma de la fermentation alcoolique, nous réservant d'étudier ces diverses réactions plus en détails à propos de la glycolyse sanguine ou de la formation d'acide lactique au cours de la contraction musculaire, ces derniers phénomènes étant ceux qui présentent pour nous le plus d'intérêt.

A. — **Fermentation alcoolique.** — Les nombreuses recherches effectuées depuis Pasteur sur la fermentation alcoolique ont mis en évidence les étapes suivantes :

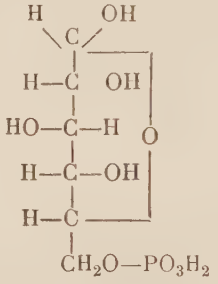
1° Phosphorylation de l'hexose et clivage de la molécule en triose-phosphates. 2° Oxydation anaérobie de ce dernier et formation d'acide pyruvique. 3° Décarboxy-

lation de l'acide pyruvique donnant naissance à de l'acétaldéhyde et par réduction à de l'alcool.

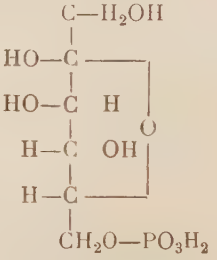
1° Phosphorylation des hexoses. — C'est à Harden et Young que l'on doit en 1905 l'importante découverte du rôle du phosphore dans la dégradation des glucides (signalée en même temps par L. Iwanoff). Ils constatent qu'en présence de suc de levure la fermentation est rapidement arrêtée mais repart après addition de phosphate de soude ; et isolent des liquides de fermentation l'ester fructofuranose 1-6 diphosphorique ou ester de Harden et Young. D'autres esters ont été isolés par la suite : ce sont l'ester glucopyranose 6 monophosphorique de Robison et l'ester fructofuranose 6 monophosphorique de Neuberg. Voici leur formule.



ester de Harden et Young



ester de Robison



ester de Neuberg

Cette phosphorylation est dûe à un système fermentaire, l'élément essentiel est l'acide adénosinetriphosphorique (ou adénylpyrophosphorique) en tant que donateur de phosphore.

2° Formation des esters triose phosphoriques. — Sous l'action d'une diastase, la zymohexase, l'ester hexosediphosphorique se dédouble en une molécule d'ester dihydroxyacétonephosphorique et en une molécule d'acide glycéraldéhydephosphorique

$$PO_3H_2—CH_2O—CO—CH_2OH \rightleftharpoons CHO—CHOH—CH_2O—PO_3H_2$$

3° Oxydation du triosephosphate. — Le phosphoglyceraldéhyde, se transforme en acide phosphoglycérique

par l'interevntion d'un ferment la co-zymase qui fixe deux atomes d'hydrogène

$$CHO—CHOH—CH_2O—PO_3H_2 + Coz \longrightarrow$$
$$COOH—CHOH—CH_2O—PO_3H_2 + Coz\ H_2$$

Il s'agit donc d'une oxydation en anaérobiose.

4° Formation d'acide pyruvique. — Par une série de réactions, l'acide phosphoglycérique donne naissance à de l'acide pyruvique en libérant de l'acide phosphorique : $COOH\text{-}CO\text{-}CH_3 + PO_4H_3$. L'acide pyruvique mis en évidence dans la fermentation en 1913 par Fernbach et Schön, a une grande importance comme intermédiaire de la dégradation des glucides, car c'est à partir de ce corps que se forment soit de l'alcool dans la fermentation alcoolique soit de l'acide lactique dans la contraction musculaire ou la glycolyse sanguine.

5° Décarboxylation de l'acide pyruvique. — Elle est réalisée par la réaction : acide pyruvique ⟶ acétaldéhyde.

Cette réaction a lieu par décarboxylation de l'acide pyruvique, grâce à un ferment, la décarboxylase (Neuberg) dont le co-ferment est le pyrophosphate d'aneurine (vitamine B_1).

Ainsi, couplée avec l'oxydation du triose phosphate la réduction de l'acétaldéhyde donne naissance à l'alcool.

En étudiant la formation de l'acide lactique à partir des glucides, nous allons maintenant voir ces réactions plus en détails, mettant ainsi en évidence la complexité de ces phénomènes.

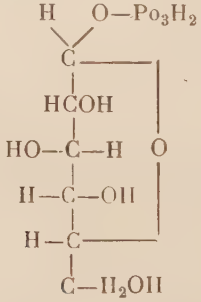
B. — **Dégradation des glucides en acide lactique.** — C'est le phénomène que l'on observe dans le muscle et le sang. Lorsque l'on conserve du sang hors des vaisseaux, on constate que le sucre en disparaît progressivement et qu'il apparaît de l'acide lactique. Ce sont bien souvent les très nombreuses recherches intéressant la dégradation des sucres dans le muscle qui ont largement contribué à éclaircir le mécanisme de la glycolyse du sang. Ce n'est que par analogie avec le muscle que

certaines étapes de la glycolyse sanguines ont pu être connues. Aussi pour avoir une idée d'ensemble complète et coordonnée des diverses étapes de la glycolyse, devrons nous étudier d'abord la glycolyse musculaire. Nous verrons ensuite comment en rapprocher ou en différencier la glycolyse du sang, les deux phénomènes étant analogues dans leur ensemble.

a) **Glycolyse musculaire.** — Les diverses étapes en sont les suivantes :

Phosphorylation des hexoses, clivage des esters phosphoriques en triosephosphates, enfin étape des oxydoréductions anaérobie avec formation d'acide lactique. Pour le muscle, une deuxième phase dite oxybiotique aboutit à la resynthèse du glycogène.

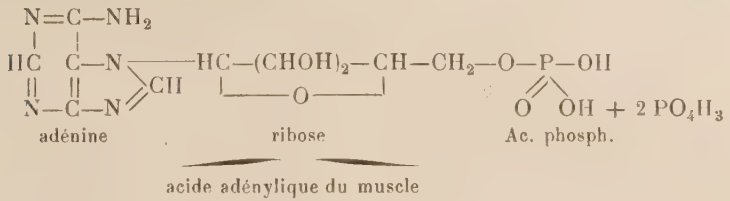
1° Phosphorylation des sucres. — Elle conduit à la formation d'ester hexosediphosphorique (fructose 1-6 diphosphorique). Cet ester se trouve en équilibre avec les esters de Neuberg et de Robison (mélange connu sous le nom d'ester d'Embden), dont nous avons vu plus haut la formule.

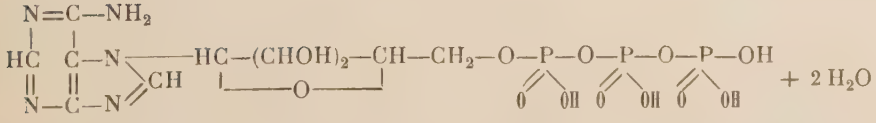


La formation de ces esters est précédée d'une phosphorylation du glycogène, ce dernier étant le véritable substrat de l'activité enzymatique musculaire. Il se forme alors un ester particulier qui résulte de la phosphorylation directe de la molécule de glycogène sans transformation préalable en glucose. Il s'agit de l'ester glucose 1-phosphorique de C. F. Cori et G. T. Cori qui prend

naissance, sous l'action d'une phosphorylase, par rupture des liaisons glucosidiques à l'intérieur de la molécule de glycogène, avec phosphorylation simultanée à chaque point de la rupture (mécanisme déjà envisagé par Parnas [74]). Cette réaction est réversible *in vitro* (Cori, Haner).

La phosphorylation a lieu sous l'action d'un ferment, la phosphorylase, isolé récemment par Kiessling [52] et dont l'action est complétée par le co-enzyme, ou transporteur d'ions phosphoriques, en présence des ions Mg. Ce « co-enzyme » (1) est l'acide adenosinetriphosphorique (A. T.P.) ou adénylpyrophosphorique découvert par Lohmann en 1929. En effet, cet auteur avait déjà caractérisé dans le muscle, la présence de pyrophosphate. Il vit dans cet ion phosphorique, un produit de décomposition avec l'acide adénylique, de l'acide adénosinetriphosphorique :





Acide adénylpyrophosphorique

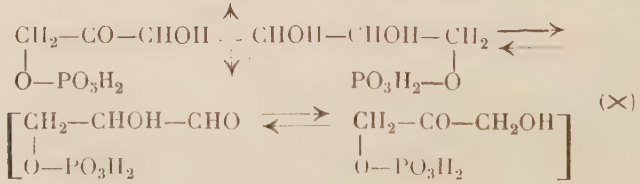
Les deux groupes phosphoriques terminaux de l'acide adénylpyrophosphorique sont d'une mobilité particulière. Ce fait a pu être confirmé par Parnas [75] à l'aide du

(1) Ce nom de co-enzyme est encore employé bien qu'impropre car l'acide adénylpyrophosphorique n'est pas le groupement prosthétique d'un enzyme, mais demeure à l'état libre et n'a aucune activité fermentaire.

phosphore marqué (par l'emploi des isotopes radio-actifs). Les deux groupes phosphoriques se détachent par action enzymatique et contribuent à la synthèse des hexose phosphates. (L'acide adénosinetriphosphorique est reformé aux dépens du phosphagène du muscle qui se décompose en créatine et acide phosphorique. Nous verrons par la suite que sa synthèse se fait également grâce aux phosphates libérés par les esters phosphoriques au cours des étapes ultérieures de la glycolyse).

2° Clivage de la molécule d'hexosephosphate. — Sous l'action d'une diastase appelée par Meyerhof zymohexase il y a rupture de l'hexosediphosphate en deux molécules en C_3. Meyerhof et Lohmann réussissent en 1934 à isoler le triosephosphate qu'ils caractérisent comme étant l'ester dioxyacétonephosphorique [**63**], seul produit de dédoublement pensent-ils de l'hexosediphosphate. Ces auteurs établissent en outre la réversibilité de la réaction [**64**]. Embden avait auparavant émis l'hypothèse de la formation d'une molécule de phosphodioxyacétone et d'une molécule de phosphoglycéraldéhyde. En poursuivant ses travaux, Meyerhof a pu vérifier l'hypothèse d'Embden et isoler les deux triosephosphates. Dès sa formation, le glycéroaldéhydephosphate se transforme en phosphodioxyacétone et c'est la raison pour laquelle il avait échappé à l'analyse. En les captant au moyen de l'hydrazine, O. Meyerhof [**61**] a pu isoler les deux trioseesters avant que le glycéroaldéhydephosphate se soit transformé en dioxyacétonephosphate. Il a ainsi constaté qu'il se formait 50 p. 100 de chacun des deux esters. La réaction s'établit ainsi (Meyerhof).

Acide hexosediphosphorique ⇄ [Acide glycéroaldéhydephosph ⇄ Acide dioxyacétonephosph.]



En employant le bisulfite à la place de l'hydrazine, Meyerhof [62] a trouvé une proportion de 70 p. 100 de phosphoglycéraldéhyde dans le mélange de triosephosphates et conclut que la décomposition anaérobie du sucre se poursuit exclusivement par la voie du glycéroaldéhydephosphate.

Cette conclusion est en accord avec les découvertes d'O. Warburg qui constate en présence de phosphates, la formation d'un glycéroaldéhydediphosphate [94] lequel déplace l'équilibre (×) précédent dans le sens de la formation du glycéroaldéhyde monophosphate, aux dépens du dioxyacétonephosphate. Celui-ci est ainsi intégralement transformé. C'est donc bien uniquement par la voie du phosphoglycéraldéhyde, que se poursuit la décomposition du glucose.

3° Etape des oxydoréductions anaérobies. — Cette réaction éclaire également l'étape suivante du métabolisme du glucose, qui est une réaction d'oxydoréduction transformant le phosphoglycéraldéhyde en acide phosphoglycérique (isolé par Embden). Cette réaction a lieu sous l'action de la cozymase (le co-ferment I de Warburg) qui, agissant en tant que groupement prosthétique d'une déhydrogénase spécifique, oxyde le glycéroaldéhydephosphate et se transforme en dihydrocozymase par fixation de 2 H.

Acide glycéroaldéhydephosphorique + Coz ⇄ Acide phosphoglycérique + $CozH_2$

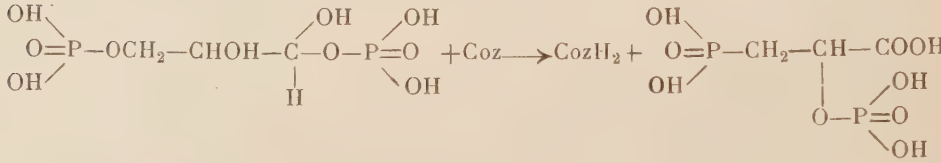
$CHO—CHOH—CH_2O—PO_3H_2$ + Coz ⇄ $COOH—CHOH—CH_2O—PO_3H_2$ + $CozH_2$

Meyerhof (1938) remarque que la réaction entre le glycéroaldéhydephosphate et la cozymase ne peut avoir lieu que si elle est couplée avec une réaction de phosphorylation [65, 67] selon le schéma suivant :

1 ac. glycéroaldéhydephosphorique + 1 Coz + 1 ac. adénosinediphosphorique + 1 ac. phosphorique ⇄ 1 ac. phosphoglycérique + $CozH_2$ + 1 ac adénosinetriphosphorique

l'acide adénoside triphosphorique contribuant à l'estérification du glucose présent dans le milieu. Cette ré-

action couplée est expliquée par la découverte faite par Warburg et Christian [94] du glycéroaldéhydediphosphate. Voici quelle est la réaction : Le glycéroaldéhydediphosphate est oxydé par la cozymase en un acide 1-3 diphosphoglycérique instable qui cède son groupe phosphate labile à l'accepteur présent et se transforme en acide 3 phosphoglycérique. C'est là la réaction de couplage nécessaire pour qu'ait lieu l'oxydo-réduction.



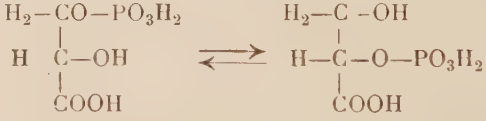
La réaction totale s'établit ainsi :

1 triosediphosphate + 1 Coz + 1 adenosinediphosphate (1)

⟶ 1 ac. 3-phosphoglycérique + 1 $CozH_2$ + 1 adénosinetriphosphate

L'acide adénosinetriphosphorique ainsi formé peut transporter son phosphate labile sur d'autres accepteurs, notamment, comme l'indique Meyerhof [66] sur la créatine. Ainsi se trouve reconstitué le phosphagène servant à la synthèse de l'A.T.P. à partir de l'acide adénylique.

L'acide phosphoglycérique subit une isomérisation et de phospho 3-glycérique devient phospho 2-glycérique.

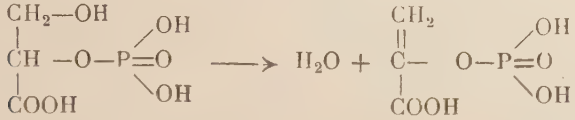


La réaction est réversible et l'on a un état d'équilibre entre les deux isomères. Elle est caractérisée par une enzyme spécifique, la phosphoglycéromutase.

Après ce stade, s'effectue la transformation de l'acide phosphoglycérique en acide phosphopyruvique, par per-

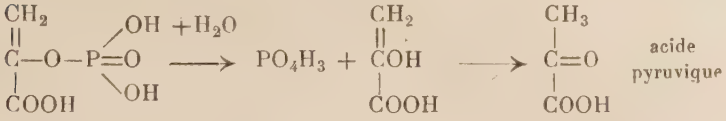
(1) Coz = Cozymase ; $CozH_2$ = dihydrocozymase.

te d'une molécule d'eau, l'acide phosphopyruvique obtenu étant sous sa forme énolique.



Cette réaction est dûe à une enzyme spéciale, l'enolase. Il est à remarquer que c'est la première réaction irréversible qui se produit au cours de la dégradation du glucose. Elle assure donc le déplacement de tout le système glycolytique dans le sens de la production d'acide pyruvique, utilisant ainsi intégralement les esters phosphoriques et partant le substrat glucidique initial.

4° Formation d'acide pyruvique. — L'acide phosphopyruvique instable perd son groupe phosphorique pour se transformer en acide pyruvique.



L'ion phosphorique ainsi libéré est transporté sur l'acide adénylique avec lequel il reconstitue de l'acide adénosinetriphosphorique. La découverte de cette réaction est dûe à Parnas et ses collaborateurs [73, 76].

5° Formation d'acide lactique. — L'acide lactique se produit par réduction de l'acide pyruvique, cette réduction étant opérée par un enzyme spécifique, dont la dihydrocozymase est le groupement prosthétique (lacticodéhydrogénase). Ainsi la dihydrocozymase produite pendant l'oxydation du phosphoglycéraldéhyde cède son hydrogène pour réduire l'acide pyruvique et rentre dans le cycle des réactions sous forme de cozymase.

Il est important de souligner l'interdépendance des systèmes enzymatiques de phosphorylation et d'oxydoréduction ou « réactions couplées » de Meyerhof. Nous

avons d'une part l'oxydo-réduction à l'aide de la cozymase entre le triosephosphate et l'acide pyruvique, d'autre part la phosphorylation de l'hexose par le phosphate libéré au cours de l'oxydation du diphosphoglycéraldéhyde. Cette phosphorylation se fait par l'intermédiaire de l'acide adénosinetriphosphorique ; elle est indispensable pour que se produise l'oxydo-réduction.

b) **Glycolyse du sang.** — Dès la mise en évidence d'un glucide sanguin Cl. Bernard avait constaté que ce glucide disparaissait en quelques heures, *in vitro*. De nombreux auteurs par la suite, Lépine [58], Barral [3], Arthus [2], Doyen et Morel [30], Portier [81], Levenne et Meyer, Mauriac et Servantié [59] entreprennent l'étude de ce phénomène. Ils montrent que la disparition du sucre se produit indépendamment de toute action microbienne, et qu'elle est dûe à la présence des éléments figurés du sang. Embden [33] en 1912, puis Slosse [89], Chelle et Mauriac [17] constatent qu'au cours de la glycolyse, le sucre sanguin se transforme en acide lactique.

Rona et ses collaborateurs [87], les premiers, démontrent l'action favorisante de l'ion phosphorique sur la glycolyse. Bierry et Moquet [11] ,ensuite, constatent dans le sang au cours de la glycolyse une disparition du phosphore inorganique, simultanée à celle du glucose, et concluent à la formation d'un composé organique du phosphore. Morgulis et Barkus [69], Irving [50] nient cette conception, pour n'avoir pas constaté une diminution de l'acide phosphorique libre au cours de la glycolyse. J. Roche et A. Roche [86] en 1927, puis en 1929, affirment la participation d'une combinaison phosphorée du glucose à la glycolyse : si la glycolyse peut se produire sans diminution de phosphore libre cela est dû à une libération simultanée et indépendante de ce corps amenant un « équilibre » entre le phosphore disparu et le phosphore libéré. Ces auteurs constatent que la glycolyse est simultanée à une fixation de l'acide phospho-

rique ou à un ralentissement de sa mise en liberté. Ils remarquent que la présence de calcium est indispensable à l'activité de l'enzyme glycolytique. Rona et Iwasaki [88] pensent également que l'estérification est une étape nécessaire du processus de glycolyse.

Les travaux de Meyerhof en 1932 [60] permettent de rapprocher avec certitude le mécanisme de la glycolyse dans le muscle et dans le sang. Il isole le système glycolytique des globules rouges du sang et montre son identité avec le co-enzyme musculaire ; pyrophosphate, adénine et Mg^{++}. En effet le pouvoir glycolytique des globules rouges qui disparaît après dialyse, réapparaît après addition de pyrophosphate, d'adénine et de Mg. Cependant, l'extrait de globules rouges ne peut glycolyser le glycogène comme le muscle. Cela tient à la différence du ferment proprement dit, récemment mise en évidence par l'isolement de ces différents enzymes : d'une part une phosphorylase isolée par Kiessling [52] et spécifique de la glycogénolyse, et d'autre part une hexosephosphatèse, isolée par V. Euler [35] et spécifique de la phosphorylation des hexoses, comme son nom l'indique. C'est très vraisemblablement ce dernier enzyme qui entre en jeu dans la glycolyse du sang.

Les nombreux et importants travaux poursuivis par Z. Dische depuis 1934 ont mis en évidence dans le sang les principales étapes de la dégradation des sucres communes à la glycolyse dans le muscle, à celle du sang et à la fermentation alcoolique.

1° Z. Dische constate la formation d'acide 1-6 fructose diphosphorique ou ester de Harden et Young [19], l'acide phosphorique provenant de l'acide adénosine triphosphorique.

2° L'ester phosphorique se divise ensuite en deux esters de triose, cette réaction étant un véritable équilibre [19]. Dische identifie l'un de ces triose-esters au phosphoglycéraldéhyde dont il souligne l'importance.

3° Enfin se produit la phase des oxydo-réductions

[21] qui a lieu entre le triose-ester et l'acide pyruvique avec formation intermédiaire d'acide phosphoglycérique. L'acide pyruvique donne ensuite naissance à l'acide lactique. L'agent de cette réaction est également la cozymase, nucléotide pyridique contenue dans un enzyme spécifique et isolée du sang par Warburg et Christian [95]. Comme dans la glycolyse musculaire, cette réaction est couplée avec une réaction de phosphorylation et ainsi Dische explique la resynthèse de l'acide adénylpyrophosphorique à partir des ions phosphoriques libérés par les triosephosphates [20, 22]. Bien que n'étant pas soulignée, il est probable qu'ici comme dans le muscle, c'est la formation d'acide diphosphoglycérique qui explique ce couplage par cession d'un groupement phosphorique labile. L'acide diphosphoglycérique en effet a été mis en évidence dans le sang par Greenwald en 1925 et par Machebœuf, en quantités assez importantes. Il s'accumule même lorsque la transformation du glucose en acide lactique n'est pas intégrale comme cela se produit dans une suspension de globules rouges de pH voisin de 7,2, la transformation complète n'ayant lieu que dans du sang maintenu à un pH de 8,9 par une solution tampon à base de citrate (Dische [21]).

Cette richesse en acide phosphoglycérique est un fait particulier au sang et l'importance de cet intermédiaire est une des principales différences, avec le mécanisme de la phosphorylation, entre les systèmes glycolytiques du muscle et du sang. (Certains auteurs pensent que la dégradation des glucides se ferait également dans le sang à partir du glycogène mais ce fait n'est pas prouvé).

De plus l'étude du facteur improprement appelé « coenzyme » n'a pas été approfondie pour le sang comme elle l'est maintenant pour le muscle. Cette étude mériterait de l'être, car elle seule permettrait de pénétrer au cœur même de la réaction.

En résumé, la dégradation biologique du glucose apparaît à la lumière des faits que nous avons rappelés

succintement comme un phénomène complexe. Nous avons vu qu'il s'agit avant tout de l'enchaînement d'une série de réactions réversibles aboutissant à des états d'équilibre régis par la loi d'action de masse. Par ailleurs, nous avons vu que ces réactions exigent la présence de nombreux enzymes (phosphorylase, zymase, carboxylase, énolase etc...). En outre les réactions où entrent en jeu des molécules glucidiques sont étroitement couplées avec des réactions qui se produisent entre molécules phosphorées. Une telle complexité permet de concevoir qu'il suffira d'une modification parfois très légère apportée à l'un des stades de la dégradation biologique du glucose, pour que celle-ci évolue dans un sens très différent de celui des conditions normales.

On peut alors assister à une véritable déviation du phénomène. C'est ainsi par exemple que la fermentation alcoolique se trouve déviée par addition de carbonate de sodium ou de bisulfite de sodium, conduisant alors à la production de glycérine, avec un rendement assez élevé pour qu'une telle déviation ait pu être appliquée industriellement à la préparation de ce dernier corps. Dans ce cas en effet le bisulfite de sodium bloque l'aldéhyde éthylique dès son apparition et ce dernier corps ne peut plus accepter l'hydrogène de la dihydrocozymase. Cette dernière cède alors son hydrogène à la glycéraldéhyde qui se trouve ainsi transformée en glycérine. Dans le cas où on effectue la fermentation alcoolique en milieu alcalin on favorise de ce fait la production de la réaction de Cannizaro, à partir de deux molécules d'aldéhyde éthylique qui donnent naissance à de l'acide acétique et à de l'alcool éthylique. Ici encore, l'aldéhyde éthylique se trouve éliminé du système et ce dernier pour les mêmes raisons invoquées précédemment, évoluera vers la formation de glycérine.

La nature même de la levure peut avoir une influence considérable et V. Euler [34] a montré en particulier que la levure basse conduit à la formation simultanée

d'acide lactique et d'acétaldéhyde à partir de l'acide pyruvique.

Par ailleurs, Jost a montré [51] que l'intervention des phénomènes d'oxydation au cours de la glycolyse peut provoquer des différences dans l'intensité de la production d'acide lactique, dans les diverses cellules animales métabolisant le glucose ; l'oxydation porte préférentiellement sur l'acide d-glycérinealdéhydephosphorique qui conduit alors à l'acide phospho-glycérique.

Ces quelques exemples, illustrent la facilité avec laquelle il est possible de faire dévier la dégradation biologique du glucose de son évolution normale.

OBJET DU TRAVAIL.

Aussi bien avons-nous pensé qu'il serait intéressant d'étudier si certaines substances contenues dans le sang étaient ou non capables d'influer sur l'évolution de la fermentation alcoolique.

En effet, le sang contient des corps tels que l'acide phosphoglycérique, l'acide adénylique dont nous avons vu le rôle dans la fermentation. Nous avons pensé que les substances de cette nature pouvaient être susceptibles de modifier certaines réactions d'équilibre et de ce fait, d'influer sur l'évolution de la fermentation. En outre la présence de pigments respiratoires dans le sang maintient dans ce milieu une pression d'oxygène élevée, et nous avons vu que l'influence de celle-ci est à prendre en considération (Jost) dans la dégradation biologique du glucose. L'intérêt de ces recherches réside aussi dans le fait suivant : nous avons vu que la fermentation alcoolique et la glycolyse sanguine présentent de très grandes analogies et nous ferons remarquer qu'il n'existe aucune explication relative à la formation d'acide lactique à partir de l'acide pyruvique au cours de la glycolyse, alors que ce même corps se transforme en

alcool sous l'action de la levure. En outre, si DUMAZERT et PENET ont pu montrer [24] que le glucose plasmatique est transformé au contact de la levure de bière tout comme s'il s'agissait d'une solution pure de glucose, ces auteurs précisent bien qu'il n'en est pas de même lorsqu'on fait agir la levure de bière sur du sang total de sujets normaux.

Cette dernière observation est à la base de notre travail, dont le but, en définitive est la recherche des modifications que peuvent apporter à la fermentation alcoolique du glucose, certains constituants des éléments figurés du sang.

Dans ce but nous avons étudié sur un sang normal :

1° La vitesse de disparition du glucose sanguin sous l'action de la levure de bière.

2° La formation d'alcool et celle d'acide lactique dans du sang total additionné de levure.

3° La formation de ces corps dans des hémolysats sanguins, c'est-à-dire après destruction du système glycolytique du sang.

4° Nous avons en outre poursuivi les mêmes expériences sur des sangs hyperglycémiques, afin de déterminer si les variations de la concentration en glucose du sang pouvaient engendrer des modifications dans les faits observés. Ces résultats nous permettront d'apporter également quelques données intéressantes sur le système glycolytique des diabétiques.

5° Enfin nous avons étudié le comportement des glucides combinés du sang au cours de la fermentation de ce dernier par la levure.

RECHERCHES PERSONNELLES.

Nous avons eu pour but d'étudier la dégradation du glucose dans le sang total en présence de levure de bière, et de déterminer ainsi les modifications que peuvent apporter à la fermentation alcoolique certains constituants des éléments figurés du sang. Pour réaliser ce travail, nous avons eu à effectuer des dosages : de la glycémie libre, des glucides combinés, des dosages d'alcool et d'acide lactique. Nous exposerons en premier lieu les techniques utilisées, puis nos résultats expérimentaux et leur discussion.

A. — *TECHNIQUES.*

a) **Dosage des glucides.**

1) Sucre libre. — Nous avons employé la méthode de Hagedorn et Jensen, trop connue pour qu'il soit nécessaire de la décrire en détails. Notons seulement que nous opérons au cours de ce dosage, non pas une déprotéinisation zincique comme l'indiquent ces auteurs, mais la déprotéinisation cadmique, mise au point par C. Dumazert [23] et réalisée ainsi :

Dans un tube à essais à bec de 6 cm. de long, introduire 2 cm^3 de la solution suivante :

Sulfate de cadmium crist. pur.....	13 g.
Solution normale d'acide sulfurique..	60,5 cm^3
Eau distillée q.s.p.....	1000 cm^3

puis la prise d'essai de 0,1 cm^3 de sang ou de plasma ; enfin, et en agitant, 1 cm^3 d'une solution de soude,

0,275 N. Agiter et filtrer. Ce procédé a l'avantage de permettre le dosage de la glycémie vraie. On sait, en effet, que les dialysats ou les filtrats de déprotéinisation préparés en vue du dosage de la glucidémie libre contiennent le plus souvent des substances de nature non glucidique mais réductrices vis-à-vis du réactif mis en œuvre pour le dosage. Ces substances, très nombreuses, dont l'ensemble constitue le « reste de fermentation » sont une importante source d'erreurs. En employant la déprotéinisation cadmique, la valeur de ce « reste de fermentation » est pratiquement nulle. Déjà, A. Fujita et D. Iwatake [40] avaient signalé que les filtrats sanguins obtenus en employant l'hydrate de cadmium comme agent de déprotéinisation, sont dépourvus de « reste de fermentation ».

2) Sucres combinés. — On sait qu'il existe dans le sang, deux fractions de glucides combinés [25], les uns caractérisés par leur faible liaison aux protéines et libérables seulement par les acides faibles ou les acides forts très dilués ; d'autres combinés solidement aux protéines et libérales seulement par les acides forts. Nous utiliserons pour le dosage de ces deux fractions glucidiques les méthodes mises au point par Dumazert et Penet [28] et qui sont les suivantes :

Sucres faiblement combinés. — On détermine d'abord la glycémie du plasma sanguin (soit A sa valeur) par la méthode de Hagedorn et Jensen précédée de la déprotéinisation cadmique. Ensuite on soumet à l'hydrolyse 0,1 cm^3 du même plasma au moyen de 2 cm^3 de la solution au sulfate de cadmium utilisée pour la déprotéinisation du sang au cours de la méthode de Hagedorn et Jensen et contenant 60,5 cm^3 de solution normale d'acide sulfurique par litre ; l'hydrolyse est alors obtenue par une solution d'acide sulfurique 0,0605 normale, donc très diluée. On porte au bain-marie bouillant pendant deux heures. Après refroidissement et déprotéinisation par addition de 1 cm^3 de soude 0,275 N, on dose les glucides totaux, (soit B leur valeur), dans les mêmes conditions

que pour la glycémie libre. La différence (B—A) représente la quantité de corps réducteurs mise en liberté au cours de l'hydrolyse et se trouve exprimée en g. de glucose p. 1000.

Sucres fortement combinés. — La glycémie initiale est dosée par la méthode de HAGEDORN et JENSEN. Soit A sa valeur. Le microdosage du sucre protéidique est réalisé de la manière suivante : dans un tube à essais, d'une longueur de 15 cm. environ et muni d'un petit bec, on introduit 2 cm³ du réactif suivant :

Sulfate de cadmium crist. pur.....	13	g.
Acide sulfurique 2 fois normal	530,25	cm³
Eau distillée q.s.p.....	1000	cm³

Ainsi nous introduisons par une mesure volumétrique unique à la fois le réactif qui servira ultérieurement à la déprotéinisation et la quantité d'acide sulfurique nécessaire à l'hydrolyse (équivalente à 2 cm³ de solution normale d'acide sulfurique). On ajoute 0,05 cm³ de plasma mesuré avec les précautions d'usage et on porte au bain-marie bouillant pendant 2 heures, après avoir agité. On laisse refroidir et on ajoute alors, peu à peu, et en agitant, 1 cm³ d'une solution 2,275 normale, laquelle permet à la fois la neutralisation de l'acide introduit pour l'hydrolyse et la précipitation de l'hydrate de cadmium qui assure la déprotéinisation. On filtre (sur papier filtre sans cendres) et on lave le précipité à trois reprises avec chaque fois 2 à 3 cm³ d'eau distillée. On recueille le filtrat et les eaux de lavage dans un gros tube à centrifuger en vue du dosage par la méthode de HAGEDORN et JENSEN. Le filtrat doit être parfaitement limpide, incolore, et neutre au papier de tournesol. Soit B_1 la valeur des glucides totaux ainsi trouvée et exprimée en g. de glucose par litre de plasma. La différence B_1—A (sucres totaux moins sucre libre) représente la quantité, exprimée en g. de glucose p. 1000 cm³ de plasma, de glucides réducteurs combinés aux protéines et mis en liberté par l'hydrolyse, dans les conditions où nous nous sommes placés. La différence

B_1—B (B étant la somme du sucre libre et du sucre faiblement combiné) représente la valeur du sucre fortement combiné ou « sucre protéidique ».

Il faut également dans ces dosages, préparer un essai témoin en effectuant l'ensemble des opérations à partir de 2 cm³ du réactif ayant servi à l'hydrolyse, additionné de 0,1 cm³ d'eau distillée à la place du plasma sanguin.

b) Dosage de l'alcool.

Pour suivre la fermentation des glucides du sang, nous aurons à effectuer des dosages de l'alcool produit par ces glucides au contact de la levure de bière. Les travaux de C. Dumazert et G. Penet [24] ont montré en effet que l'alcool ainsi formé correspond quantitativement au glucose présent dans le sang. Pour mettre au point leur technique, ces auteurs ont entrepris tout d'abord l'étude du dosage du glucose en solutions pures et de concentrations voisines du taux normal de la glycémie, à partir de l'alcool se formant sous l'action de la levure de bière. Nous avons utilisé cette technique et repris l'étude de la fermentation du glucose en solutions pures car ce dosage exige des conditions d'expérience bien déterminées qu'il nous était difficile de reproduire exactement. On sait en effet que le rendement en alcool de la fermentation du glucose n'est pas celui que laisserait prévoir la réaction de Gay-Lussac :

$$C_{16}H_{12}O_6 \longrightarrow 2\ CO_2 + 2\ C_2H_5OH$$

Il lui est d'autant plus inférieur que la solution d'alcool est plus diluée (environ 77 p. 100 pour des concentrations de 1 à 2 g. p. 1000, d'après les travaux de Nicloux et Grabar, Guillemet) et dépend, pour être constant, de plusieurs facteurs importants, à savoir : la concentration du glucose et la durée de fermentation, la température, le pH du substrat, enfin la quantité et la qualité de la levure mise en œuvre. Or, s'il nous était facile, pour appliquer la technique utilisée par C. Dumazert et

G. Penet [27], de remplir les premières de ces conditions, nous ne pouvions être sûrs de la levure utilisée par nous. C'est pourquoi il nous a paru nécessaire de refaire : 1° la détermination du maximum de rendement en alcool en fonction du temps (d'après Dumazert et Penet ce maximum s'établit après une durée identique de fermentation pour toutes les concentrations) ; 2° une courbe d'étalonnage du rendement en alcool en fonction de la concentration.

1) Principe du dosage de l'alcool par la méthode de M. Nicloux [71]. — L'alcool est oxydé par un léger excès de bichromate de potassium en milieu sulfurique, en tube fermé, et à une température de 85° C. L'excès de bichromate est dosé par du sulfate ferreux en léger excès et titrage en retour de ce dernier au moyen du permanganate de potassium. De la quantité de bichromate consommé on déduit celle de l'alcool.

Solutions titrées nécessaires. — 1°) Bichromate de potassium, $Cr_2O_7K_2$ (P.M., 294,4). On utilise, selon le cas, l'une des trois solutions suivantes, dont les teneurs en bichromate sont dans les rapports 1, 2, 5.

Solution A.....	4,262 g.	par litre
— 2 A.....	8,524 g.	—
— 5 A.....	21,310 g.	—

Ce sont les solutions étalon auxquelles devront se rapporter les suivantes ; elles sont pratiquement inaltérables. 1 cm^3 de la solution A correspond à 1 mg. d'alcool.

2°) Sulfate de fer ammoniacal (sel de Mohr), SO_4Fe, $SO_4(NH_4)_2$, 6 H_2O ; (P.M., 392,12). Solution à 17,027 g. par litre ; 2 cm^3 réduisent 1 cm^3 de la solution A de bichromate.

3°) Permanganate de potassium, MnO_4K (P.M., 158,12). Solution à 1,373 g. par litre ; elle est exactement équilibrée volume à volume, avec la solution de sulfate de fer.

Vérification des solutions titrées. — S'assurer d'abord que les solutions de sel ferreux et de permanganate se

correspondent exactement (à l'aide d'une microburette de 2 cm^3). Pour vérifier la solution ferreuse, on ajoute à 1 cm^3 de solution 5 A, acidifiée par SO_4H_2 étendu, 10 cm^3 de la solution de sel de Mohr, qui doivent le réduire exactement. Verser ensuite, à l'aide de la microburette, un excès de 0,2 cm^3 par exemple de solution ferreuse. Si celle-ci est exacte le retour doit se faire par 0,2 cm^3 exactement de permanganate. On verse le permanganate jusqu'à virage de la teinte verte du sulfate de chrome au vert teinté de pourpre (visible très nettement).

Réactif nécessaire. — Acide sulfurique pur bouilli ; d = 1,84 étendu de la moitié de son volume d'eau, soit à 66,6 p. 100 en volume.

Mode opératoire. (Toute la verrerie utilisée doit être parfaitement propre). — Dans un tube à essais de 20 mm. de diamètre extérieur fermé par un bouchon de verre de diamètre plus petit et rodé, on introduit 5 cm^3 de la solution à analyser, qui ne doivent pas contenir plus de 5 mg. d'alcool. On ajoute 2,5 cm^3 d'acide sulfurique à 66,6 p. 100. On refroidit. On ajoute alors exactement mesuré, le volume nécessaire, et au plus égal à 2 cm^3, de la solution A, 2 A, 5 A de bichromate de telle façon qu'elle soit en léger excès. Fermer hermétiquement après avoir humecté d'acide sulfurique le rodage du bouchon. On agite légèrement le tube et le place dans un bain-marie à 85° pendant une heure, la partie où se trouve le liquide étant seule immergée. Après ce temps, la réaction est terminée, on retire le tube et on le refroidit ; le contenu doit être vert-jaune, ou jaune si l'alcool est en très petite quantité.

Au moyen d'une microburette, on verse dans le tube un léger excès de la solution de sel de Mohr, c'est-à-dire jusqu'à disparition de toute teinte verte, puis dose cet excès par le permanganate contenu dans une autre microburette, jusqu'à virage au rose.

Calcul du résultat. — Soient respectivement *a*, *b*, *c*, les quantités en cm^3 de solution de bichromate, (exprimée

en solution A de bichromate) de solution de sel de Mohr et de solution de permanganate versées. La différence (b—c) indique la quantité de sulfate de fer qui a réduit l'excès de bichromate, et $\left(\frac{b-c}{2}\right)$ est cet excès. D'où le calcul du bichromate consommé : $a-\left(\frac{b-c}{2}\right)$ = alcool en mg. dans la prise d'essai. Pour une quantité d'alcool voisine de 5 mg. la précision est de 1 à 2 p. 1000.

2) Application de la méthode a la fermentation de solutions de glucose [79]. — On utilise des solutions tampon phosphatées contenant entre 0,5 g. et 1,50 g. p. 1000 cm³ de glucose et dont le pH se trouve ainsi ajusté à la valeur de 5,6 qui est celle de l'optimum d'action de la levure. 25 cm³ de solution glucosée, mesurés dans un flacon poudrier de 60 cm³ hermétiquement bouché, sont additionnés de 0,2 cm³ d'une suspension de 5 g. de levure fraîche de boulangerie dans 5 cm³ d'eau salée physiologique et placés à l'étuve à 37° C. Après fermentation, on ajoute 40 cm³ d'eau distillée et au moyen d'un appareil de Schlœsing et Aubin, on distille exactement 25 cm³ de liquide. Le dosage de l'alcool est alors exécuté par la méthode de M. Nicloux sur 5 cm³ de distillat.

Détermination du maximum de rendement en alcool en fonction du temps. — Selon la technique ainsi décrite, nous avons mis à fermenter une solution de glucose à

TABLEAU I. — *Evolution de la fermentation en fonction du temps d'une solution de glucose à 1 g. p. 1000 cm³.*

Durée de la fermentation	Alcool dosé (en mg. p. 1000 cm³) Expériences n°s		
	I	II	III
1 heure 30 minutes.....	352	355	325
2 — 30 minutes.....	354	399	339
4 —	325	394	330
5 —	—	393	—
6 —	320	397	328

1 g. p. 1000 cm³, et procédé au dosage successivement après 1 heure 30 min., 2 heures 30 min., 4 heures et 6 heures de fermentation. Nous avons fait trois expériences semblables et en consignons les résultats dans le tableau I.

Nous pouvons constater que le rendement est maximum après 2 heures 30 min. de fermentation, décroît légèrement jusqu'à 4 heures et se maintient constant pendant quelques heures encore. C'est donc après 2 heures 30 min. de fermentation que nous effectuerons les dosages d'alcool dans la suite de ce travail.

Valeur du rendement maximum en alcool en fonction de la concentration du glucose. — Le rendement R définit le rapport de l'alcool formé à l'alcool qui pourrait prendre naissance théoriquement d'après la formule de Gay-Lussac et rapporté à 100. Dans le but d'étudier comment varie ce rendement maximum, nous avons effectué le dosage de l'alcool formé après 2 heures 30 min. de fermentation dans des solutions dont la concentration en glucose variait entre 0,50 g. et 1,50 g. p. 1000 cm³ (en milieu tampon). Le tableau II résume les résultats que nous avons obtenus.

TABLEAU II. — *Valeur du rendement maximum en alcool en fonction de la concentration en glucose (après 2 heures 30 min. de fermentation).*

Expériences n°s	Concentration du glucose : g. p. 1000	Alcool dosé en mg.	Rendement en alcool p. 100
I.....	0,75	0,276	72
	1,00	0,368	72
	1,25	0,444	69,4
	1,50	0,542	70,6
II.....	0,50	0,177	69,2
	0,75	0,270	70,4
	1,00	0,361	70,6
	1,50	0,543	70,8

De l'examen de ces résultats il ressort que pour des concentrations de cet ordre de grandeur, le rendement ne dépend pas de la dilution. Il est sensiblement identique pour toutes ces concentrations, à quelques erreurs d'expérience près, 70 - 72 p. 100. Ces résultats diffèrent sensiblement de ceux obtenus par G. PENET dont nous appliquons les méthodes. G. PENET [79] montrait que le rendement maximum passait de 39,7 p. 100 à 62,3 p. 100 pour des concentrations en glucose variant de 0,60 g. à 1,80 g. p. 1000. Il est à remarquer, en outre, que le rendement obtenu par nous est bien supérieur à celui obtenu par G. PENET. Ces divergences de résultats tiennent essentiellement au mode opératoire utilisé pour la fermentation. PENET laissait celle-ci évoluer directement dans des ballons de 1000 cm³ destinés à la distillation de l'alcool au moyen de l'appareil de SCHLŒSING et AUBIN, c'est-à-dire au contact d'une quantité importante d'air. Nous avons au contraire utilisé pour la fermentation du glucose, de petits flacons poudriers de 60 cm³, ne maintenant que très peu d'air au contact du liquide, et évitant

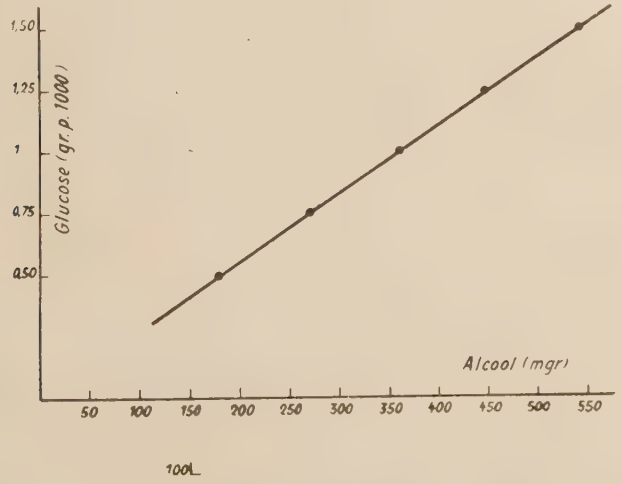


FIGURE 1. — *Courbe des quantités maxima d'alcool formées au bout de deux heures 30 min. de fermentation, en fonction des concentrations des solutions de glucose.*

l'évaporation de l'alcool que pouvait favoriser un ballon de 1000 cm³.

Nous donnons nos résultats sous forme de graphique dans la figure 1 montrant que la quantité d'alcool produit au bout de 2 heures 30 min. de fermentation est proportionnelle à la quantité de glucose fermenté.

3) Amélioration du rendement en alcool. — Le rendement de 70 - 72 p. 100 que nous obtenons est légèrement inférieur à celui que l'on pourrait attendre, d'après les travaux de Nicloux et Grabard [72] qui notent un rendement allant jusqu'à 77 p. 100, pour des concentrations en glucose voisines de 2 p. 1000. Nous avons pensé pouvoir améliorer notre rendement, en opérant dans une atmosphère totalement exempte d'air. Nous avons essayé de réaliser cette condition de deux façons différentes, en opérant, soit en atmosphère d'azote, soit en atmosphère de gaz carbonique.

Fermentation en atmosphère d'azote. — Le flacon poudrier utilisé pour la fermentation est surmonté d'un tube barbotteur plongeant dans le liquide et relié à une bombe d'azote. On fait passer l'azote pendant deux à trois minutes, on obture le tube et on laisse évoluer la fermentation selon la technique habituelle. Nous avons reproduit ainsi les mêmes expériences que précédemment en laissant fermenter 2 heures 30 min. des solutions tampon de glucose contenant 0,5 g., 0,75 g. et 1,50 g. p. 1000 cm³. Nous avons obtenu les résultats suivants :

Glucose mis en œuvre (en g. p. 1000 cm³)	Alcool dosé (en g.)	Rendement (en alcool p. 100)
0,50	0,146	57,1
0,75	0,217	56,4
1,50	0,456	59,4

Nous avons pensé devant ce faible rendement que l'infériorité du résultat ne pouvait être impliquée à l'azote, mais plutôt qu'il était dû à l'emploi d'une levure défectueuse. Aussi avons-nous recommencé ces expériences en

laissant fermenter simultanément la même solution de glucose à l'air et en atmosphère d'azote. Voici les valeurs comparatives des rendements obtenus :

	Glucose mis en œuvre (en g. p. 1000 cm³)		Alcool dosé (en g.)	Rendement (en alcool p. 100)
I	1,50	azote	0,561	73,1
		air	0,538	70,2
II	1,50	azote	0,538	70,2
		air	0,509	66,4
III	1,50	azote	0,523	68,2
		air	0,517	67,4

Les résultats obtenus en atmosphère d'azote sont donc légèrement supérieurs à ceux obtenus par fermentation au contact de l'air. Mais cette amélioration est très faible. D'autre part en ne considérant que les résultats donnés par la fermentation à l'air et les comparant à ceux obtenus pour notre courbe d'étalonnage, nous pouvons constater qu'ils sont irréguliers à 5 p. 100 près, d'une expérience à l'autre. Nous pensons que ces légères différences ne peuvent être dûes qu'à l'emploi de levures de fabrication irrégulière (1). Car la qualité de la levure et son mode de fabrication influent beaucoup sur la vitesse de fermentation et le rendement de la réaction (Guillemet [42]). Il ne nous a donc pas paru utile d'employer un mode opératoire qui n'apportait que 2 à 3 p. 100 d'amélioration du rendement alors que la levure donnait lieu déjà à des différences de rendement de l'ordre de 5 p. 100, ce mode opératoire étant d'un emploi peu pratique pour de grandes séries d'expériences.

Fermentation en atmosphère de gaz carbonique. — De la même façon on fait barbotter dans la solution de glucose du gaz carbonique obtenu extemporanément par action d'acide chlorhydrique sur du marbre. Nous avons

(1) Ces recherches ont été effectuées depuis la guerre et il ne nous était pas possible d'obtenir une levure de marque et de qualité bien déterminées.

fait deux essais de fermentation simultanément au contact de l'air et de gaz carbonique.

	Glucose mis en œuvre (en g. p. 1000 cm³)		Alcool dosé (en g.)	Rendement (en alcool p. 100)
I	1,50	en gaz carb.	0,448	58,4
		à l'air	0,466	60,6
II	1,50	en gaz carb.	0,440	57,2
		à l'air	0,461	59,9

Le rendement est donc inférieur en atmosphère de gaz carbonique (ce qui n'est pas surprenant d'après la loi de déplacement des équilibres).

Nous emploierons donc pour l'étude de la fermentation du sang la méthode primitivement utilisée qui consiste à placer le liquide en expérience dans des petits flacons poudriers de 60 cm³ bouchés hermétiquement. Ils ont l'avantage de ne laisser qu'une très faible quantité d'air au contact du sang, ce qui a permis d'obtenir des résultats suffisants au point de vue du rendement en alcool. De plus, à chaque expérience, nous ferons une rectification du rendement par rapport à notre courbe d'étalonnage, en laissant fermenter simultanément à nos essais, une solution tampon de glucose à 0,80 g. p. 1000 cm³.

c) Dosage de l'acide lactique.

Nous avons utilisé un appareil conçu par C. Dumazert [23 *bis*] pour permettre le dosage de ce corps à l'échelle microanalytique et dont le fonctionnement est semblable à celui de Cotonio et Shaffer.

1) Principe du dosage. — Il est basé sur l'oxydation permanganique de ce corps en acétaldéhyde (principe classique de Friedemann) et dosage colorimétrique de celui-ci grâce à la coloration bleue spécifique obtenue en présence de nitroprussiate de soude et de pipérazine (Fromageot et Desnuelle).

Fonctionnement de l'appareil. — La figure ci-jointe permettra d'en suivre facilement le mode d'emploi. La prise d'essai comprise entre 20 et 350 γ est introduite dans le ballon C de l'appareil, avec 5 cm³ du réactif de formule suivante :

Sulfate manganeux	100 g.
Acide sulfurique conc. pur.....	284 cm³
Eau distillée q. s. p.....	1000 cm³

On introduit aussi une petite bille de verre destinée à régulariser l'ébullition. Par ailleurs, dans le tube D portant un trait de jauge à 12 cm³, on mesure 1 cm³ de solution de bisulfite à 1 p. 100 maintenue à pH = 7,2 environ par addition de 5 g. p. 100 d'acétate de soude. Le robinet B étant fermé on remplit l'ampoule A d'une solution environ 0,005 N de permanganate de potassium préparée extemporanément à partir de la solution 0,1 N. On adapte le ballon C sur son rodage et le tube D sur la bague de caoutchouc. On fait circuler un courant d'eau froide dans le réfrigérant et un léger courant d'air (lavé par barbottage dans de l'eau distillée) dans tout l'appareil en s'aidant d'une trompe à vide. On porte et on maintient le contenu du ballon à une douce ébullition ; on ouvre alors le robinet B de façon à laisser s'écouler la solution diluée de permanganate à raison d'une goutte toutes les cinq secondes environ. Il est important de veiller à ce que le débit de permanganate soit très lent en sorte que l'oxydation ne dépasse pas le stade aldéhyde. L'opération est terminée lorsque la coloration rose du permanganate persiste dans le ballon C. On ferme alors le robinet B et on poursuit la distillation pendant quelques minutes. L'acétaldéhyde formée, très volatile, s'échappe par l'espace annulaire existant autour du réfrigérant intérieur et vient se fixer sur la solution de bisulfite qui, entraînée par l'aspiration, imprègne les minuscules billes de verre contenues dans le tube E, tandis que l'eau reflue dans le ballon grâce au réfrigérant. Cette oxydation demande en général 20 à 30 minutes. Lorsqu'elle est terminée on débouche le tube E et on détache le tube D tout en le main-

tenant en place pour recueillir le bisulfite qui s'écoule ; laver les billes de verre 7 fois, avec chaque fois 1 cm³ d'eau distillée que l'on reçoit dans le tube D.

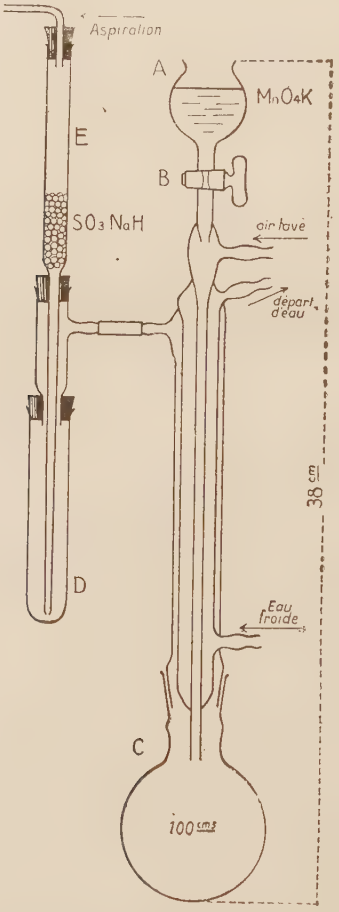


FIGURE 2. — *Appareil pour le microdosage de l'acide lactique.*

Titrage colorimétrique de l'acétaldéhyde. — On ajoute au contenu du tube D une goutte d'une solution *limpide*

d'empoi d'amidon et décompose l'excédent de bisulfite en versant goutte à goutte et en agitant une solution 0,1 N d'iode jusqu'à virage au bleu de l'empoi. On décolore par addition d'une quantité juste suffisante d'hyposulfite 0,1 N dilué au demi ou au tiers. Compléter au trait de jauge du tube (12 cm³) au moyen d'une solution saturée de bicarbonate de sodium qui détruit la combinaison bisulfitique de l'acétaldéhyde. *Filtrer.* On prélève 10 cm³ du filtrat limpide dans un tube bouchant à l'émeri et on y ajoute 1 cm³ d'une solution de nitroprussiate de sodium à 4 g. p. 100 préparée extemporanément, puis 3 cm³ d'une solution de pipérazine obtenue en dissolvant 25 g. de pipérazine cristallisée dans 75 cm³ d'eau distillée. Boucher, agiter vigoureusement, et verser immédiatement dans la cuve du colorimètre. La coloration atteint son maximum d'intensité en 2 ou 3 minutes et s'y maintient pendant 2 minutes environ. C'est cette valeur maxima qu'il importe de saisir et de noter, car, par la suite, l'intensité de la coloration décroît rapidement.

Avant d'utiliser cette méthode pour le dosage de l'acide lactique dans le sang, nous avons établi une courbe d'étalonnage, au moyen de solutions pures d'acide lactique préparées de la façon suivante : nous avons purifié du lactate de zinc en le cristallisant 3 fois et nous avons dissous 265 mg. de ce corps pesés très exactement dans 1000 cm³ d'eau sulfurique. Un cm³ de cette solution contient exactement 0,16 mg. d'acide lactique. Nous avons procédé à l'oxydation en acétaldéhyde de la façon indiquée précédemment successivement sur 1 cm³ et 2 cm³, 3 cm³ et 4 cm³ de la solution et contenant respectivement 0,16 mg. et 0,32 mg., 0,48 mg. et 0,64 mg. d'acide lactique. La coloration bleue de l'acétaldéhyde a été obtenue par addition de 0,5 cm³ de nitroprussiate à 4 p. 100 et 1,5 cm³ de pipérazine saturée, à 5 cm³ de la liqueur à titrer. Nous avons effectué les mesures colorimétriques au moyen du photomètre de Pullfrich : filtre S^{72} et cuve de 2 cm.

Voici sous forme de tableau les résultats obtenus :

Acide lactique mis en œuvre : en γ	Extinction ε du photomètre
160	32
320	58
480	83
640	105

Les quatre points s'alignent sur une droite que l'on aurait pu prendre comme étalon. Mais nous avons voulu augmenter la sensibilité du dosage. Aussi avons-nous recommencé nos essais en utilisant la cuve de 3 cm. du photomètre (filtre S^{72}). Nous avons effectué le titrage colorimétrique sur 10 cm^3 de la liqueur contenant l'acétaldéhyde après addition de 1 cm^3 de nitroprussiate et 3 cm^3 de pipérazine, et sur des prises d'essai de 0,5 cm^3, 1 et 2 cm^3 de solution d'acide lactique à 0,265 g. p. 1000 cm^3.

Le tableau III suivant indique les résultats de trois expériences.

TABLEAU III. — *Variations de l'extinction ε du photomètre en fonction de l'acide lactique.*

Acide lactique mis en œuvre : (γ)	Extinction ε Expériences n°s		
	I	II	III
00	23	23	23
80	40	40	40
160	57	56	59
320	91	91	89

Les lectures sont d'un ordre de grandeur tel que la visibilité est parfaite. De plus l'emploi de la cuve de 3 cm. augmente notablement la sensibilité du dosage. Aussi avons-nous adopté l'emploi de cette cuve ainsi que les doses de réactifs qui lui correspondent. (Ce sont les doses que nous indiquons plus haut dans la description du mode opératoire).

La courbe obtenue est une droite que nous traçons dans le graphique de la figure 3.

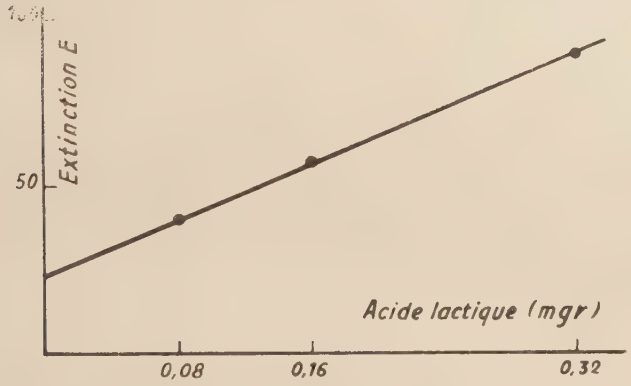


FIGURE 3. — *Variations de l'extinction* ε *du photomètre en fonction de l'acide lactique.*

Il est indispensable de faire un essai témoin avec tous les réactifs mis en œuvre depuis la récolte du bisulfite car un tel liquide absorbe une quantité constante mais importante de lumière, même après la filtration qui est de règle, après l'addition du bicarbonate de sodium (voir le point 0 dans le graphique ci-dessus).

2) APPLICATION AU DOSAGE DE L'ACIDE LACTIQUE DANS LE SANG. — Il est nécessaire au préalable d'éliminer les protéines et les sucres.

Elimination des protéines. — 4 cm³ de sang sont laqués par addition de 32 cm³ d'eau distillée. On ajoute 4 cm³ d'une solution d'acide trichloracétique pur et redistillé à 40 p. 100 (conservée à la glacière). Bien agiter et abandonner le mélange 1 heure (au plus) de façon que la défécation soit complète. On centrifuge 3 ou 4 minutes à grande vitesse pour obtenir un liquide aussi clair que possible.

Elimination des sucres. — On reprend 20 cm³ de liquide clair de déprotéinisation, qu'on introduit dans un

ballon de 50 cm³ et on y ajoute 2 cm³ d'une solution de sulfate de cuivre à 10 p. 100, puis goutte à goutte et en agitant de la potasse à 60 p. 100 jusqu'à obtention d'un précipité léger mais persistant d'hydrate de cuivre. On ajoute alors 1 cm³ d'une suspension de chaux à 10 p. 100 bien homogène. On complète à 50 cm³ avec de l'eau distillée. Agiter et laisser en contact au moins une demi-heure. On centrifuge. Le dosage de l'acide lactique se fait alors selon la méthode indiquée ci-dessus sur une prise d'essai convenable du liquide clair.

B. — *RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX.*

Sachant que la fermentation du sang total ne produit pas la quantité d'alcool qui prend naissance en présence du sérum de même glycémie, nous avons examiné quel est le comportement du glucose dans le sang total en présence de levure de bière. Nous avons suivi pour cela la formation d'alcool et d'acide lactique : ainsi que nous l'avons vu, le sang se trouve en effet en présence de deux systèmes enzymatiques transformant tous deux le glucose en acide pyruvique, mais conduisant à partir de ce stade, l'un à la formation d'alcool, l'autre à celle d'acide lactique.

a) **Fermentation du sang total normal.**

1) Disparition du glucose sanguin dans le sang total additionné de levure. — Nous avons en premier lieu, étudié la vitesse de disparition du glucose du sang en présence de levure de bière. Nous avons laissé la glycolyse évoluer à 37° C dans du sang total d'homme prélevé aseptiquement, après y avoir ajouté, pour 25 cm³ de sang, 0,2 cm³ [32] d'une suspension de 5 g. de levure fraîche des boulangers dans 5 cm³ de sérum physiologique.

Nous avons dosé la glycémie libre de quinze minutes

en quinze minutes dans le plasma après centrifugation (méthode de Hagedorn-Jensen). Nous avons effectué quatre expériences semblables et nous en consignons les résultats dans le tableau IV ci-dessous.

TABLEAU IV. — *Variations de la glycémie en présence de levure en fonction du temps.*

Durée de la fermentation	Glycémie libre Expériences n°s			
	I	II	III	IV
0	0,52	0,68	1,09	0,89
15 minutes	0,38	0,60	0,93	0,71
30 —	0,24	0,48	0,64	
45 —	0,03	0,39	0,57	0,12
60 —	0	0,07	0,48	0,02
1 heure 15 minutes	—	—	0,25	—
1 heure 30 minutes	—	—	0,02	—

On sait que la glycolyse n'est totale qu'au bout de 6 à 8 heures. Nous pouvons remarquer qu'en présence de levure de bière, le phénomène est très accéléré. Le glucose libre a totalement disparu au bout de 1 heure à 1 h. 30 min. Ces résultats sont en accord avec ceux des auteurs américains, et nous permettent de conclure que le glucose est immédiatement absorbé par la levure, ainsi que l'admet Blanco [82] qui envisage deux temps dans l'action de la levure sur les glucides, d'abord adsorption rapide du glucose, ensuite dégradation.

2) Formation d'alcool et d'acide lactique en présence de levure. — Ceci fait, nous avons pensé que de l'alcool avait pu se former sous l'action de la levure et nous avons recherché cet alcool en utilisant la technique suivante : 25 cm³ de sang défibriné et prélevé aseptiquement, sont mesurés dans un flacon poudrier de 60 cm³ ; on ajoute 0,2 cm³ d'une suspension de 5 g. de levure fraîche des boulangers dans 5 cm³ de sérum physiologique. On place à l'étuve à 37° C et laisse la fermentation

évoluer deux heures 30 min. temps au bout duquel la quantité d'alcool formée doit être maxima. On ajoute alors 50 cm³ d'une solution saturée d'acide picrique pour précipiter les protéines du sérum. On distille dans un appareil de Schlœsing et Aubin et recueille 25 cm³ du distillat sur 5 cm³ desquels on procède au dosage de l'alcool par la méthode de M. Nicloux. On sait que dans ces conditions il se forme dans le plasma sanguin [24], une quantité importante d'alcool caractéristique du taux du glucose du plasma. Aussi, à titre de comparaison, avons-nous soumis le plasma provenant d'un même sang, à la fermentation dans des conditions identiques. Le tableau suivant résume les résultats obtenus.

TABLEAU V. — *Formation d'alcool dans le sang total et dans le plasma sous l'action de la levure de bière après 2 h. 30 min. de fermentation.*

Glycémie (g. p. 1000)	Alcool (en g. p. 1000)	
	sang total	plasma
0,83	0,021	0,296
0,94	0,017	0,267
0,88	0,018	0,321
0,81	0,015	0,288
0,65	0,006	0,218
0,72	0,009	0,256
0,86	0,018	0,310

Nous voyons à l'examen de ce tableau qu'au bout de 2 h. 30 min. de fermentation, lorsque le glucose sanguin a complètement disparu, les quantités d'alcool formées sont comprises entre 0,006 g. et 0,021 g. p. 1000. Or, les quantités d'alcool dont on pourrait escompter la formation à partir d'un taux de glucose voisin de 0,80 p. 1000 devraient être de l'ordre de 0,280 g. à 0,300 g. p. 1000 ainsi que le montrent les dosages faits simultanément dans le plasma. On peut en conclure qu'il ne se fait pratiquement pas d'alcool quand on ajoute de la levure de

bière à du sang total de sujets normaux alors que la fermentation du glucose plasmatique par la levure de bière le produit, et penser à une déviation du phénomène.

Nous avons alors recherché l'acide lactique, afin de déterminer l'action du système glycolytique globulaire sur le glucose dans ces conditions d'expérience. Nous avons donc opéré de la même façon que pour la recherche de l'alcool, c'est-à-dire, en laissant la fermentation évoluer à l'étuve à 37° C dans du sang additionné de levure de bière (0,2 cm³ d'une suspension de 5 g. de levure fraîche des boulangers dans 5 cm³ de sérum physiologique pour 25 cm³ de sang). Nous avons dosé l'acide lactique par la méthode antérieurement décrite (p. 46) après des temps variables de fermentation et le tableau VI expose les résultats de ces recherches.

TABLEAU VI. — *Formation d'acide lactique dans le sang total en présence de levure de bière.*

Numéro de l'expérience	Durée de la fermentation	Glycémie (g. p. 1000)	Acide lactique (g. p. 1000)	Acide lactique formé
1.	0 h. 00 minute ...	0,81	0,371	
	2 h. 30 — ...	0.00	0,637	0,266
2.	0 h. 00 minute ...	0,65	0,170	
	1 h. 00 — ...	0,33	0,340	
	2 h. 30 — ...	0,06	0,545	0,375
3.	0 h. 00 minute ..	0,85	0,309	
	2 h. 30 — ...	0,39	0,577	
	5 h, 00 — ...	0,08	0,650	0,341
4.	0 h. 00 minute ...	0,84	0,080	
	1 h. 00 — ...		0,227	
	4 h. 00 — ...		0,287	
	5 h. 00 — ...	0,01	0,375	0,295

Il se forme donc des quantités croissantes d'acide lactique au cours de la fermentation du sang total normal. L'acide lactique apparaît lentement et en quantité rela-

tivement peu élevée. Nous avons d'ailleurs effectué des dosages de l'acide lactique formé au cours de la glycolyse de façon à pouvoir leur comparer les résultats obtenus par fermentation. Nous avons utilisé pour la glycolyse la technique de J. Roche et A. Roche et dosé l'acide lactique après des temps variables. Voici nos résultats sous forme de tableau.

TABLEAU VII. — *Formation d'acide lactique au cours de la glycolyse.*

Numéro de l'expérience	Durée de la glycolyse	Glycémie (g. p. 1000)	Acide lactique (g. p. 1000)	Acide lactique formé
1.	0 h. 00 minute ...	0,89	0,244	
	2 h. 30 — ...		0,453	
	4 h. 00 — ..		0,535	
	5 h 00 — ...		0,750	
	7 h. 00 — ...	0,12	0,750	0,506
2.	0 h. 00 minute ...	0,72	0,222	
	1 h. 00 — ...		0,224	
	6 h. 00 — ...		0,822	
	8 h. 00 — ...	0,04	0,850	0,628

Nous constatons que pour des durées identiques d'expérience la quantité d'acide lactique formée en présence de levure de bière est en général moins élevée qu'au cours de la glycolyse. De même que Z. Dische [21] l'a constaté, au pH du sang, voisin de 7,2, nous voyons que pendant la glycolyse, le glucose n'est pas intégralement transformé en acide lactique, ceci probablement par accumulation dans le sang d'acide diphospho-glycérique.

En résumé, en présence de levure de bière, le glucose sanguin est rapidement adsorbé par celle-ci, mais il ne se forme pas d'alcool. Par contre, une certaine quantité d'acide lactique prend naissance, très vaisemblablement, à partir des esters phosphoriques de trioses non diffusibles des hématies. Il est possible aussi qu'une légère

quantité de glucose ait subi la fermentation lactique par les globules.

D'ores et déjà, on peut supposer que les éléments figurés du sang jouent un rôle pour empêcher la levure de former de l'alcool. Nous avons recherché si cette action était ou non en relation avec l'intégrité morphologique des globules sanguins.

3) Dosage de l'alcool et de l'acide lactique dans les hémolysats en présence de levure. — Aussi avons-nous répété les mêmes expériences sur des globules laqués provenant de sujets normaux. Pour cela, 20 cm³ de sang défibriné sont centrifugés ; on décante le sérum, on lave les hématies trois fois avec de l'eau physiologique. En dernier lieu, le culot de centrifugation est additionné d'un volume égal à celui du plasma, d'une solution de glucose à 1 g. p. 1000 cm³ environ dans de l'eau distillée. Les globules sont ainsi laqués. On ajoute alors 0,2 cm³ de suspension de levure de bière et on poursuit l'expérience comme précédemment. Nous avons dosé, après 2 h. 30 min. de fermentation, l'alcool et l'acide lactique par les méthodes indiquées. Le tableau VIII donne l'ensemble de ces résultats.

TABLEAU VIII. — *Formation d'alcool et d'acide lactique dans les hémolysats de globules sanguins de sujets normaux à partir du glucose en présence de levure de bière.*

Glucose (g. p. 1000)	Alcool formé (g. p. 1000)	Acide lactique formé (g. p. 1000)
0,86	0,054	0,081
0,81	0,018	0,062
0,83	0,010	0,052
1,09	0,00	0,053

De l'examen de ce tableau, il ressort que les hémolysats se comportent comme le sang intact, quant à l'ab-

sence d'alcool. Mais l'acide lactique ne se fait qu'en quantité minime.

Nous pouvons donc constater que ce phénomène n'est pas lié à l'intégrité morphologique des éléments figurés puisqu'il persiste après laquage du sang. Il ne nous semble pas non plus que l'on doive mettre en cause, comme on pourrait le penser de prime abord, la dualité des deux systèmes enzymatiques présents avec prépondérance de l'un sur l'autre. En effet, si tel était le cas, il pourrait se former de l'alcool par fermentation après laquage, puisque par cette opération, nous avons détruit l'activité glycolytique des hématies. Or, il ne s'en forme pas et peu d'acide lactique apparaît. Cette réaction montre, en outre, que l'acide lactique formé dans les hémolysats mis en présence de levure n'est pas dû à l'action de celle-ci, mais qu'il provient bien d'un facteur globulaire.

Ainsi donc, nous pouvons conclure, que l'action certaine de la levure sur le glucose est inhibée ou déviée par la présence des globules rouges, à l'un des stades intermédiaires de la dégradation de ce glucide. Deux hypothèses semblent devoir attirer notre attention : d'une part, il peut y avoir bloquage de la carboxylase et inhibition de la réaction : acide pyruvique ⟶ alcool + gaz carbonique. En effet, la richesse en oxygène des globules rouges peut exercer une action inhibitrice sur cet enzyme. D'autre part, la réaction peut être seulement déviée, cette déviation étant dûe à l'apport globulaire en un produit intermédiaire de la dégradation du glucose.

b) **Fermentation de sangs hyperglycémiques.**

Nous avons pensé que la concentration du glucose pouvait intervenir dans le phénomène observé, et porté alors nos recherches sur des sangs de diabétiques en état d'hyperglycémie ou non. Cet ordre de recherches nous permettra en premier lieu d'étudier plus profondément le phénomène qui nous intéresse, et d'éliminer l'une des

deux hypothèses précédemment émises. Il nous permettra d'autre part d'apporter quelques données intéressantes sur le système glycolytique du sang dans ce cas pathologique.

Notre étude a porté tout d'abord sur des sangs de diabétiques hyperglycémiques. Selon le protocole expérimental utilisé dans le cas d'un sang normal, nous avons mis à fermenter le sang de diabétique. Le tableau IX contient les résultats de ces recherches.

TABLEAU IX. — *Fermentation alcoolique de sang total de diabétiques hyperglycémiques.*

Glycémie (g. p. 1000)	Alcool formé (g. p. 1000)	Alcool formé dans une solution de glucose de même concentration
1,22	0,204	0,440
1,80	0,312	0,645
1,97	0,296	
2,22	0,238	

A l'examen de ce tableau, nous pouvons constater la formation de quantités importantes d'alcool sous l'action de la levure de bière sur des sangs de diabétiques hyperglycémiques. Il faut noter que ces quantités d'alcool sont nettement inférieures à celles que permettraient de prévoir le taux du glucose existant. En effet, si l'on se reporte à notre courbe de fermentation du glucose en solution pure, on peut voir que 1,50 g. p. 1000 de glucose, par exemple donnent naissance à 0,542 g. d'alcool. A la suite de ces résultats, nous nous sommes posé les questions suivantes : la formation d'alcool ainsi observée est-elle la conséquence d'une perturbation du système glycolytique sanguin, inhérente au diabète ? Ou bien, le système glycolytique est-il normal chez les diabétiques et l'apparition de l'alcool est-elle simplement dûe à la concentration élevée de glucose dans le sang de ces malades ?

Pour répondre à ces questions, nous avons tout d'abord étudié la fermentation du sang de diabétiques dont la glycémie a été ramenée à la normale à la suite du traitement par l'insuline. Voici quelques résultats obtenus par la technique précisée précédemment.

TABLEAU X. — *Fermentation alcoolique du sang de diabétiques de glycémie normale par traitement à l'insuline.*

Alcool formé (g. p. 1000)	Glycémie (g. p. 1000)
0,86	0,072
0,80	0,014
0,75	0,020

Ces quelques résultats montrent qu'il ne se forme pas davantage d'alcool sous l'action de la levure de bière dans les sangs de diabétiques lorsque leur glycémie est normale que dans les sangs de sujets normaux. Cette observation laisse à penser que l'hyperglycémie est à l'origine de l'alcool formé par fermentation des sangs de diabétiques non traités. Le phénomène est identique dans des sangs normaux chez lesquels on a créé l'hyperglycémie par addition de glucose, ainsi que le montrent les réusltats suivants :

TABLEAU XI. — *Formation d'alcool et d'acide lactique en présence de levure dans le sang additionné de glucose.*

Glycémie (g. p. 1000)	Alcool formé (g. p. 1000)	Acide lactique (g. p. 1000) Après 5 heures de fermentation
1,66	0,242	
2,34	0,452	0,256

Ainsi donc, aussi bien chez un diabétique que chez un

sujet normal, il ne se fait pratiquement pas d'alcool lorsque la glycémie a une valeur normale tandis qu'il s'en forme dès qu'il y a hyperglycémie. L'alcool ainsi formé correspond environ à l'excédent de glucose sur la valeur d'une glycémie normale. Pour bien mettre ce fait en évidence, nous avons étudié la fermentation du sang de sujet normal en fonction de la concentration en glucose. Nous avons laqué le sang de façon à détruire toute activité glycolytique des globules.

Nous avons opéré de la façon suivante : une quantité suffisante de sang normal défibriné est centrifugée. Les globules sont lavés trois fois par centrifugation au moyen d'eau physiologique. On remplace le plasma éliminé par un égal volume d'eau distillée. L'hémolysat est alors réparti dans de petits flacons en prises égales de 9 cm³ portés à 10 cm³ à l'aide d'une solution de glucose de façon à ce que la concentration aille en croissant de 0,25 g. à 2,50 g. p. 1000 de la première aux suivantes. On ajoute 0,1 cm³ d'une suspension de 5 g. de levure de bière dans 5 cm³ de sérum physiologique, on bouche hermétique-

TABLEAU XII. — *Formation d'alcool et d'acide lactique en présence de globules laqués sous l'action de la levure de bière en fonction de la concentration en glucose, au bout de 2 heures 30 minutes de fermentation.*

Taux de glucose réalisé (g. p. 1000)	Alcool formé (g. p. 1000)	Acide lactique formé (g. p. 1000)
0,25	0,006	0,040
0,50	0,014	0,080
0,75	0,048	0,110
1,00	0,110	0,108
1,25	0,204	0,108
1,50	0,318	0,106
1,75	0,388	—
2,00	0,480	0,106
2,25	0,584	—
2,50	0,688	0,122

ment et maintient l'ensemble à l'étuve à 37° C pendant 2 h. 30 min. Au bout de ce temps, on retire de l'étuve et verse chaque essai dans un ballon de 500 cm³ contenant chacun 50 cm³ d'une solution saturée d'acide picrique. Ainsi toute action de la levure est arrêtée et l'on pourra procéder au dosage de l'alcool. Nous avons également dosé l'acide lactique qui pouvait se former. Les résultats obtenus au cours de l'expérience sont contenus dans le tableau XII.

Nous avons représenté graphiquement ces résultats sur la figure 4. De l'examen de ce tableau, il ressort qu'il ne se forme pratiquement pas d'alcool ou des quantiés insignifiantes et hors de proportions avec le glucose présent tant que la concentration en glucose demeure inférieure à 0,75 - 0,80 g. p. 1000 qui est la valeur d'une glycémie normale. Au delà de cette concentration apparaissent des quantités importantes d'alcool qui croissent régulièrement avec le taux du glucose. On remarquera (fig. 4) qu'à partir de ce moment la courbe de formation d'alcool devient rapidement parallèle à celle qui traduit la production d'alcool au cours de la fermentation de solutions pures de glucose, en fonction des concentrations en ce glucide. On pourrait également la comparer à la courbe de fermentation du plasma sanguin qui est analogue à celle d'une solution de glucose.

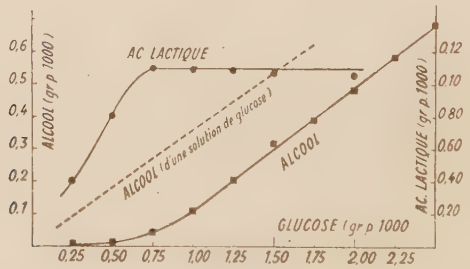


FIGURE 4. — *Courbe de rendement en alcool et acide lactique en fonction de la concentration en glucose, dans un hémolysat, en présence de levure de bière, après 2 heures 30 min. de fermentation.*

Ce fait apporte la preuve que le système glycolytique de l'hématie n'est pas en cause, et que la fermentation du glucose sanguin par la levure est influencée non pas par l'aérobiose mais par l'apport globulaire en un produit faisant dévier la fermentation. Bien qu'analogue dans son ensemble, en effet, le métabolisme des glucides dans les levures et dans le sang, n'en présente pas moins quelques divergences essentielles, tant au point de vue des intermédiaires de ce métabolisme d'une part qu'au point de vue des enzymes dont il dépend d'autre part. Le sang notamment est particulièrement riche en acide diphosphoglycérique [41]. Il est riche également en acide adénylique [49] et nous avons déjà souligné l'importance capitale du rôle de ce corps en tant que transporteur de phosphore dans la dégradation des glucides. Il serait donc possible de voir dans ces corps la cause du fait observé, à savoir la déviation de la fermentation alcoolique dans le sang total, c'est ce que des recherches ultérieures permettront de vérifier.

c) Comportement des glucides combinés au cours de la fermentation du sang total par la levure de bière.

Ayant constaté que le glucose disparaissait très rapidement du sang en présence de levure, sans formation d'alcool, alors que, par ailleurs, l'acide lactique apparaissait lentement et en quantité inférieure à celle prenant naissance au cours de la glycolyse du sang, nous nous sommes demandé si ce phénomène ne pourrait pas modifier le comportement des glucides combinés du sang au cours de la dégradation du glucose, la rapidité même de la réaction pouvant permettre de saisir des combinaisons très labiles et ainsi mettre en évidence la participation de ces sucres à la dégradation du glucose.

Pour cela nous avons utilisé la technique suivante : nous avons laissé la glycolyse évoluer à 37° C dans du sang total d'homme prélevé aseptiquement, après y avoir

ajouté 0,2 cm³ d'une suspension de levure de bière (pour 25 cm³ de sang). Nous avons alors dosé après des temps variables de fermentation : 1) la glycémie libre par la méthode de Hagedorn et Jensen précédée de la déprotéinisation cadmique ; 2) les sucres faiblement combinés et fortement combinés par les méthodes mises au point par C. Dumazert et G. Penet (et décrites p. 36). Nous résumons les résultats de ces expériences dans le tableau XIII.

TABLEAU XIII. — *Variations des glucides au cours de la fermentation du sang total par la levure de bière* (g. p. 1000).

Sangs n°s		Durée de fermentation			
		0 h.	0 h. 30 min.	1 h.	1 h. 30 min.
1.	glycémie libre	0,47	0,18	0,16	0,10
	gluc. libérés par acétolyse..	0,36	0,39	0,39	0,34
	gluc. libérés par So_4H_2N ...	2,59	3,03	2,59	2,54
2.	glycémie libre	0,68	0,18	0,0	
	gluc. libérés par acétolyse..	0,40	0,49	0,36	
	gluc. libérés par So_4H_2N ...	2,98	3,06	2,00	
3.	glycémie libre	0,71	0,39	0,08	0,03
	gluc. libérés par acétolyse..	0,48	0,50	0,46	0,40
	gluc. libérés par So_4H_2N ...	3,22	3,75	2,68	2,60
4.	glycémie libre	0,99	0,52	0,36	0,09
	gluc. libérés par acétolyse..	0,15	0,22	0,18	0,16
	gluc. libérés par So_4H_2N ...	3,34	3,49	3,64	3,40
5.	glycémie libre	0,98	0,21	0,07	0,07
	gluc. libérés par acétolyse..	0,35	0,37	0,47	0,18
	gluc libérés par So_4H_2N ...	3,03	3,56	2,60	2,61
6.	glycémie libre	1,10	0,46	0,18	0,01
	gluc. libérés par acétolyse..	0,18	0,35	0,48	0,44
7.	glycémie libre	0,68	0,38	—	0,09
	gluc. libérés par acétolyse..	0,32	0,42	—	0,32

Examinons les résultats contenus dans le tableau XIII. En ce qui concerne la glycémie libre, nous constatons une fois de plus qu'elle diminue très rapidement pour s'annu-

ler au bout de 1 heure 30 min. environ. Le sucre faiblement combiné du sang subit toujours une légère augmentation en passant par un maximum dans la période comprise entre 30 min. et 1 heure de contact avec la levure de bière. Ils diminuent ensuite, mais il faut remar-

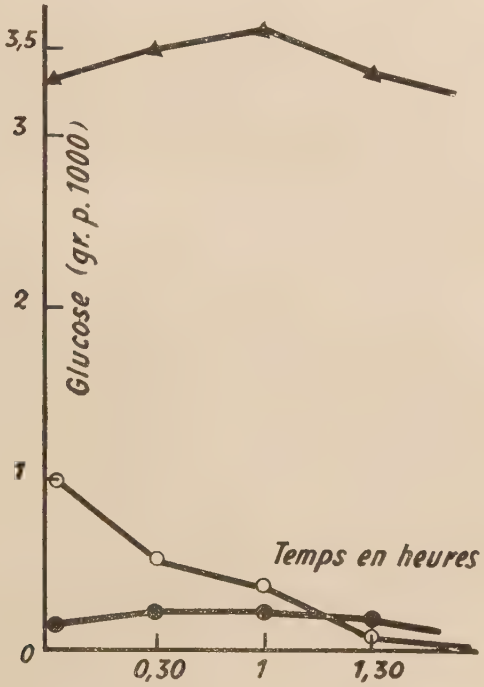


FIGURE 5. — *Variations des glucides au cours de la fermentation en présence de levure.*

o Glycémie libre ; ● Acétolyse ; ▲ Sucre fortement combiné.

quer que cette diminution ne devient vraiment nette que lorsque la glycémie libre tend elle-même à s'annuler. Quant au sucre protéidique, déduction faite des glucides faiblement combinés, on constate qu'il augmente nettement pour présenter une valeur maxima également dans l'intervalle compris entre 30 min. et 1 h. de fermentation. Notons ici que ces derniers résultats ne doivent pas être

pris en considération dans le but de dresser le bilan exact des différentes fractions glucidiques dont nous venons de signaler les variations. En effet, PENET [79] a bien insisté sur le fait que c'est arbitrairement que l'on exprime en glucose les valeurs du sucre protéidique, alors que celui-ci est constitué par différents oses dont les pouvoirs réducteurs ne sont pas identiques à celui du glucose. Ceci explique que les résultats des dosages n'expriment point la valeur absolue du sucre protéidique. Cependant ils expriment fidèlement ses variations.

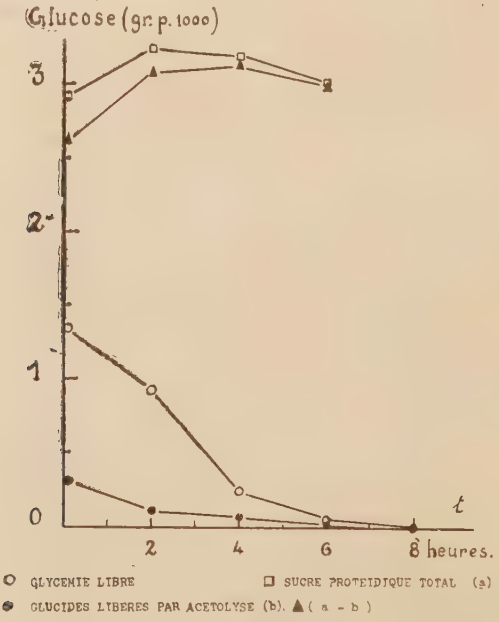


FIGURE 6. — *Glycolyse* (DUMAZERT et PENET).
o Glycémie libre ; ● Sucre libéré par acétolyse ; ▲ Sucre fortement combiné.

Ces résultats ont été traduits graphiquement dans la figure 5. Comme terme de comparaison nous donnons dans la figure 6 les graphiques relatifs aux variations de la glycémie libre, du sucre faiblement combiné et du

sucre protéidique, au cours de la glycolyse en fonction du temps : en comparant ces deux figures, on constate : *primo*, que le phénomène évolue bien plus rapidement en présence de levure de bière. *Secundo*, que la fermentation du sang total se différencie de la glycolyse sanguine par le fait que le sucre faiblement combiné, loin de disparaître simultanément au glucose libre, subit au contraire une faible augmentation et ne commence à disparaître que lorsque la glycémie est voisine de 0. Par contre, le sucre protéidique subit dans les deux cas une augmentation passagère dont on remarquera cependant qu'elle est plus accentuée dans le cas de la fermentation du sang total que dans celui de la glycolyse.

Faut-il voir dans le sucre faiblement combiné un stade intermédiaire de la dégradation du glucose ? Rien ne permet de l'affirmer. Il faudrait pour cela connaître exactement la nature de ce sucre aussi bien que la nature des combinaisons dans lesquelles il entre. Cependant, il nous paraît intéressant de signaler des recherches poursuivies au laboratoire après les nôtres et encore inédites. Elles sont basées sur l'action de la phénanthroline sur la glycolyse sanguine. Ce corps ralentit la glycolyse au bout d'un certain temps et il s'établit un palier sur la courbe de disparition du glucose. A ce stade des dosages simultanés des glucides faiblement combinés et du phosphore inorganique ont été faits. Ils montrent que les glucides faiblement combinés subissent une augmentation très accentuée tandis que le phosphore libre diminue notablement.

Nous nous bornons ici à la description des faits observés dont nous savons qu'ils servent d'hypothèse de travail à des recherches en cours au laboratoire de Chimie biologique de notre Maître. Ils contribuent à affirmer le rôle important du sucre faiblement combiné dans le métabolisme des glucides.

C. — *DISCUSSION DES RÉSULTATS ET CONCLUSIONS.*

Après avoir exposé les résultats de nos recherches, nous allons donner une vue d'ensemble des conclusions qu'elles nous permettent de tirer sur la déviation de la fermentation par les hématies d'une part, sur le système glycolytique des diabétiques d'autre part. Nous verrons enfin le comportement des sucres combinés au cours de la fermentation du sang par la levure de bière.

I. — Déviation de la fermentation alcoolique par les hématies.

Un fait important se dégage de nos expériences : en présence de levure de bière, il ne se fait pratiquement pas d'alcool à partir du glucose sanguin, dans le sang total. Or, C. Dumazert et G. Penet [24] ont montré que si l'on opère de même sur le plasma, on obtient la transformation du glucose qu'il contient en alcool à l'égal de ce que l'on observe dans une solution pure de ce glucide additionnée de levure de bière. Par contre, dans le sang total, en présence de levure, il se forme une certaine quantité d'acide lactique, bien inférieure cependant à celle à laquelle pourrait donner naissance le glucose présent au cours de la glycolyse sanguine. Nous avons montré de plus que la disparition du glucose, qui n'est totale qu'au bout de 6 à 8 h. au cours de la glycolyse [26] est réalisée en présence de levure, après 1 heure à 1 heure 30 min. de fermentation, prouvant ainsi l'action immédiate de la levure sur le glucide sanguin. Pour Raymond et Blanco, cette action pourrait se diviser en deux temps, adsorbtion rapide du glucose d'abord, puis dégradation.

On pourrait invoquer pour expliquer ce phénomène, la dualité des deux systèmes enzymatiques à l'action desquels est soumis le glucose, avec prépondérance de l'un

sur l'autre et formation d'acide lactique par les hématies.

Nous avons alors détruit l'activité glycolytique globulaire par hémolyse, et dans ces conditions il ne se forme toujours pas d'alcool sous l'influence de la levure.

Donc, en présence de levure de bière, dans le sang total, une certaine quantité d'acide lactique prend naissance sous l'action des hématies, très probablement à partir des esters phosphoriques des trioses non diffusibles des hématies. La majeure partie du glucose est adsorbée par la levure, donc soumise à son action enzymatique, mais ne donne pas d'alcool. Nous concluons, des résultats que nous venons d'exposer, à une action directe des hématies pour inhiber la formation d'alcool ou dévier la réaction.

Nous avons vu, en effet, dans notre introduction que la dégradation des glucides est caractérisée par de très nombreuses réactions dont l'enchaînement est déterminé par des couplages, par l'intervention de nombreux enzymes spécifiques et qui sont des équilibres. C'est dire que le bloquage d'un enzyme ou le déplacement d'un équilibre par exemple, peut suffire à changer totalement l'allure du phénomène. Or, pour aussi parallèles que puissent être les schémas de la dégradation des glucides dans la levure et dans le sang, celui-ci n'en apporte pas moins au milieu des éléments susceptibles de modifier l'action de la levure. D'une part, la présence d'oxyhémoglobine peut inhiber l'action de la carboxylase et bloquer la réaction : acide pyruvique ⟶ acétaldéhyde. D'autre part, l'apport en masse par les hématies d'un corps intervenant dans la dégradation des glucides peut faire dévier la fermentation alcoolique.

Un fait important nous permet de rejeter l'hypothèse d'une inhibition de la carboxylase : le facteur apporté par les hématies, en effet, n'exerce son action que sur une quantité finie de glucose au plus égale à la valeur de la glycémie normale. Dès qu'il y a hyperglycémie, l'excédent de glucose est transformé en alcool par la levure de bière, et la courbe de formation d'alcool est alors parallèle à celle qui traduit la production d'alcool à partir de solu-

tions pures de glucose. Nous pouvons donc conclure que la présence de globules sanguins entraîne une déviation de la fermentation alcoolique par apport de corps intermédiaires du métabolisme du glucose pouvant déplacer l'équilibre de certaines réactions qui constituent les principaux chaînons de la fermentation alcoolique de ce glucide. Parmi ces corps il faut signaler l'acide phosphoglycérique, découvert dans le sang par GREENWALD, et dont les hématies sont particulièrement riches, et l'acide adénylique qui, présent en abondance dans les globules peut également être mis en cause. Des recherches ultérieures permettront de le vérifier.

II. — Rôle de l'hyperglycémie dans les troubles du métabolisme glucidique au cours du diabète.

Certains auteurs ont recherché dans une insuffisance glycolytique, l'origine des troubles du métabolisme glucidique dans le diabète, tels LÉPINE, NITZESCU et POPESCU INOTESTI qui observent une diminution du pouvoir glycolytique du sang chez le chien dépancréaté. (Cette diminution n'est pas retrouvée par MAURIAC et AUBERTIN). BIERRY constate seulement un ralentissement de la glycolyse, dès qu'il y a excès de glucose.

Nos recherches montrent que le système glycolytique du diabétique ne présente pas d'anomalie quand on le compare à celui de sujets normaux dans les conditions où nous l'avons fait. Nous avons constaté, en effet, qu'en présence de levure de bière dans du sang de diabétique, une certaine quantité d'alcool prend naissance (alors qu'il ne s'en formait pas chez un sujet normal) et que cette formation d'alcool est dûe non à un dérèglement du système glycolytique mais uniquement à l'hyperglycémie. Il ne s'en forme pas, en effet, dans le sang de diabétique dont la glycémie a été ramenée à la normale par l'insuline, et par ailleurs, il s'en forme dès que le taux de glucose réalisé artificiellement dans les hémolysats provenant de sujets normaux dépasse 0,80 g. p. 1000 cm^3.

Ainsi, l'étude que nous avons faite sur le sang d'Homme normal et sur celui de sujets diabétiques nous permet de penser que la dégradation du glucose dans le sang n'est physiologiquement normale que pour autant que la glycémie se maintient au voisinage de 1 g. p. 1000. La fermentation alcoolique des glucides sanguins sous l'action de la levure ne se produit que lorsque la glycémie dépasse 0,80 g. p. 1000 et elle ne porte que sur la fraction de celle-ci excédant cette valeur. Par contre, lorsque dans les mêmes conditions, on voit apparaître de l'alcool dans le sang, on peut supposer que le système glycolytique est débordé du fait d'un excès de glucose et conclure à un métabolisme anormal des glucides, comme c'est le cas dans le diabète hyperglycémique. Il n'y aurait donc pas lieu de s'étonner que le métabolisme glucidique rentre dans l'ordre sous l'action de l'insuline, du simple fait de la réduction de la glycémie à son taux normal, ceci sans préjuger d'une action plus spécifique de cette hormone sur la combustion des glucides dans l'organisme. *L'hyperglycémie paraît donc constituer un élément très important des troubles du métabolisme des glucides chez les diabétiques.*

En conséquence, nos recherches soulignent l'intérêt qu'il y a à réduire systématiquement l'hyperglycémie et à ne pas se contenter d'une suppression de la glycosurie dans le traitement du diabète. En cela notre travail se trouve en accord avec l'opinion de Chabanier et Lobo-Onell [16] qui ont déjà insisté sur la nécessité de lutter essentiellement contre l'hyperglycémie dans la thérapeutique du diabète.

III. — Comportement des glucides faiblement combinés au cours de la fermentation alcoolique du sang total.

Nous avons vu qu'en accord avec les travaux de Lépine, C. Dumazert et G. Penet [25] ont distingué dans les glucides combinés deux fractions essentielles : l'une forte-

ment combinée aux protéines et libérables par les acides forts, c'est le « sucre protéidique », l'autre dite « faiblement combinée » et libérable par les acides forts très dilués ou par les acides faibles. Cette fraction est fermentescible après hydrolyse et participe à la glycolyse ; C. Dumazert et M. Lévy l'identifient à un hétéroside contenant du glucose, et son importance quant au métabolisme des glucides est incontestable.

Nous avons constaté qu'au cours de la fermentation du sang total, les sucres faiblement combinés accusent une très légère augmentation, pour décroître ensuite, mais cette disparition ne commence que lorsque celle du glucose libre est totale. On pourrait ainsi penser qu'ils contribuent, comme intermédiaires à la glycolyse sanguine, ce qui serait confirmé par des travaux récents et inédits de C. Dumazert et M. Lévy qui, en présence de phénanthroline, constatent au cours de la glycolyse une disparition du phosphore libre simultanée à l'augmentation qu'accuse cette fraction glucidique tandis que s'établit un palier sur la courbe de disparition du glucose libre.

Ainsi, nos recherches contribuent à affirmer encore le rôle très important de cette fraction glucidique dans le métabolisme de ces corps, rôle souligné déjà par J. Roche et Dumazert [85] et Dumazert et Memmi [29].

Quant au sucre protéidique il subit au cours de la fermentation du sang total par la levure de bière une augmentation plus importante encore que celle constatée pendant la glycolyse. Ceci montre que le sucre protéique, ou tout au moins un de ses constituants, ne se limite pas à jouer un rôle plastique comme on serait tenté de l'admettre en raison de sa grande stabilité mais qu'il apparaît comme susceptible de participer également au métabolisme glucidique.

RÉSUMÉ DES CONCLUSIONS.

Nous pouvons résumer les résultats de nos recherches de la façon suivante :

1° Nous avons montré que, sous l'action de la levure, il ne se fait pas d'alcool dans le sang total intact ou *après hémolyse,* et ceci pour une valeur du glucose au plus égale à celle de la glycémie normale, tandis qu'une faible quantité seulement d'acide lactique prend naissance. Nous concluons que ce phénomène est dû non à une inhibition de la carboxylase, mais à la déviation de la fermentation alcoolique, par apport de corps intermédiaires du métabolisme du glucose pouvant déplacer l'équilibre de certaines réactions qui constituent les principaux chaînons de la fermentation alcoolique de ce glucide. Ces corps peuvent être en particulier, l'acide diphosphoglycérique et l'acide adénylique dont le sang est riche.

2° L'étude de la fermentation de sangs hyperglycémiques nous a permis de préciser que le système glycolytique de diabétiques ne présente pas d'anomalie quand on le compare à celui de sujets normaux dans les conditions où nous l'avons fait. En effet, chez un sujet normal aussi bien que chez un diabétique, il se forme de l'alcool sous l'action de la levure dans le cas d'hyperglycémie et nous pouvons conclure de ce fait qu'un excès de glucose donne lieu à un métabolisme anormal des glucides dans le sang. L'hyperglycémie paraît donc constituer un élément très important des troubles du métabolisme des glucides chez les diabétiques. Il y a intérêt à la réduire systématiquement dans le traitement du diabète.

3° Enfin, nous avons montré que les sucres faiblement combinés accusent une très légère augmentation au cours de la fermentation du sang, pour décroître ensuite dès que la disparition du glucose libre est totale. Nous contribuons ainsi à affirmer le rôle important de cette fraction glucidique dans le métabolisme du glucose.

Vu : *le Président,*
JEAN ROCHE.

Vu : *le Doyen,*
LUCIEN CORNIL.

Vu et permis d'imprimer :
Aix, le 28 juillet 1943.
Le Recteur,
PIERRE MARTINO.

BIBLIOGRAPHIE

1. Abderhalden (E.), Bergell et Dorpinghaus. — *Zeits. für physiol. Chem.*, 1904, **41**, 530.
2. Arthus (M.). — *Arch. Physiol.*, 1891, 425 et 1892, 337.
3. Barral (E.). — *Thèse de doctorat en médecine*, Lyon, 1890.
4. Bernard (Cl.). — *Arch. gén. Méd.*, 1838, **18**, 303.
5. Bierry (H.) et Rathery (F.). — *Introduction à la physiologie des sucres*. 1935, 1 vol., Baillière et fils éditeurs, Paris.
6. Bierry (H.) et Fandard (L.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1912, **72**, 928.
7. Bierry (H.) et Fandard (L.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1913, **156**, 480 et 2010.
8. Bierry (H.) et Fandard (L.). — *C. R. Ac. Sc.*, 1914, **158**, 516.
9. Bierry (H.) et Ranc. — *C. R. Ac. Sc.*, 1914, **158**, 278.
10. Bierry (H.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1934, **115**, 1168.
11. Bierry (H.) et Moquet. — *C. R. Soc. Biol.*, 1924, **91**, 250 ; 1925, **92**, 593.
12. Bierry (H.), Rathery (F.) et Kourilsky. — *C. R. Soc. Biol.*, 1924, **90**, 417 ; *Ibid.*, 1925, **92**, 480.
13. Bigwood (E. J.) et Vuillot (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1928, **10**, n° 2, 186.
14. Bigwood (E. J.) et Vuillot (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1927, **97**, 187.
15. Bigwood (E. J.) et Vuillot (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1927, **96**, 417.
16. Chabanier (H.) et Lobo-Ouell (C.). — Doc. biol. prat., 1942, **1**, 4-20.
17. Chelle et Mauriac. — *C. R. Soc. Biol.*, 1914, **76**, 852.
18. Dische (Z.). — *Bioch. Zeits.*, 1926, **175**, 371.
19. Dische (Z.). — *Bioch. Zeits.*, 1934, **274**, 51-74.
20. Dische (Z.). — *Bioch. Zeits.*, 1935, **280**, 248-64.
21. Dische (Z.). — *Bioch. Zeits.*, 1935, **276**, 132-46.
22. Dische (Z.). — *Naturwissenschaften* 1934, **22**, 776-7 ; Ibid., **22**, 855.
23. Dumazert (C.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1935, **17**, 1163-77.

23 *bis* Dumazert (C.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1943, **25**, 1112.

24. Dumazert (C.) et Penet (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **20**, 1211-22.
25. Dumazert (C.) et Penet (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **130**, 558.
26. Dumazert (C.) et Penet (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1939.
27. Dumazert (C.) et Penet (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **127**, 75.
28. Dumazert (C.) et Penet (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **128**, 913.
29. Dumazert (C.) et Memmi. — *C. R. Soc. Biol.*, 1941, **125**, 1228.
30. Doyen et Morel. — *Soc. Médic. hôpit. de Lyon*, 1903, 120.
31. Ege (R.) et Roche (J.). — *Skandinavisches Arch. f. physiol.*, 1930, 75-87.
32. Ege (R.) et Roche (J.). — *C. R. Soc. biol.*, 1929, **101**, 93.
33. Embden. — *Bioch. Zeits.*, 1912, **45**, 81-107.
34. Euler (H. von), Ahlstrom (H.) und Högberg (B.). — *Ztchr. f. physiol. chem.*, 1941, **267**, 154-162.
35. Euler (H. von). — *Ztschr. f. Physiol. Chem.*, 1937, **246**, 83.
36. Fischer (E.). — *Ber d. d. Chem. Ges.*, 1888, **21**, 884.
37. Fränkel (S.). — *Monatschefte f. Chem.*, **19**, 819.
38. Fränkel (S.) et Jellinck. — *Biochem Zeits.*, 1927, **185**.
39. Freudenberg (K.) et Eichel (H.). — *Liebig's Ann.*, 1934, **510**, 240. Cité d'après [**93**].
40. Fujita (A.) et Iwatake (D.). — *Bioch. Ztsch.*, 1931, **243**, 43.
41. Greenwald (I.). — *J. of Biol. Chem.*, 1925, **63**, 339-349.
42. Guillemet (R.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1936, **18**, 932.
43. Hanriot. — *C. R. Soc. Biol.*, 1898, **50**, 543.
44. Hédon. — *C. R. Soc. Biol.*, 1898, **50**, 510.
45. Hewitt (J. A.). — *Bioch. Journ.*, 1936, **30**, 2229-2236.
46. Hewitt (J. A.). — *Bioch. Journ.*, 1937, **31**, 360-366.
47. Hewitt (J. A.). — *Bioch. Journ.*, 1937, **31**, 1534-1537.
48. Hewitt (J. A.). — *Bioch. Journ.*, 1938, **32**, 26-30.
49. Hoffmann (W. S.). — *J. of Biol. Chem.*, 1925, **63**, 675-679.
50. Irving. — *Bioch. Journ.*, 1926, **20**, 1320.
51. Jost (H.) und Gutermuth (W.). — *Zeits f. physiol. Chem.*, 1941, **269**, 1-7. Ibid., **269**, 8-16.
52. Kiessling (W.). — *Bioch. Zeits.*, 1939, **302**, 50.
53. Lehman. — *Gazette hebdomadaire de Médecine et chirurgie*, 1855, 763.
54. Landsteiner. — *The specificity of serological reactions.* 1 vol., Baillière, Tindall et Cox., 178 p., London, 1936. Cité d'après [**93**].
55. Lépine (R.). — *Le sucre libre du sang*, 1921, Librairie Alcan, Paris.
56. Lépine (R.) et Boulud. — *C. R. Ac. Sc.*, 1913, **136**, 1037; 1914, **138**, 610 ; 1916, **142**, 197.
57. Lépine (R.). — *C. R. Ac. Sc.*, **133**, 138.

58. Lépine (R.). — *C. R. Ac. Sc.*, 1890, **110**, 146.
59. Mauriac et Servantie. — *C. R. Soc. Biol.*, 1921, **85**, 1067.
60. Meyerhof (O.). — *Bioch. Zeits.*, 1932, **246**, 248-284.
61. Meyerhof (O.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1938, **20**, 1033.
62. Meyerhof (O.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1939, **21**, 965.
63. Meyerhof (O.) et Lohmann. — *Naturwissenschaften*, 1934, **22**, 134.
64. Meyerhof (O.) et Lohmann. — *Naturwissenschaften*, 1934, **22**, 220 ; *Bioch. Zeits.*, 1934, **271**, 89-110.
65. Meyerhof (O.), Schulz (W.) et Schüster (Ph.). — *Bioch. Ztschr.*, 1937, **293**, 338.
66. Meyerhof (O.), Schulz (W.) et Schüster (Ph.). — *Bioch. Ztschs.*, 1937, **293**, 309.
67. Meyerhof (O.), Ohlmeyer et Möhle. — *Bioch. Ztschr.*, 1938, **297**, 90.
68. Miura. — *Zeits. f. Biol.*, 1895, **14**, 279.
69. Morgulis et Barkus. — *J. Biol. Chem.*, 1925, **65**, 1.
70. Mörner. — *Centralblatt f. Physiol.*, 1893, 581.
71. Nicloux (M.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1931, **13**, 857-918 ; Ibid., 1934, p. 1317.
72. Nicloux (M.) et Grabard (P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1934, **115**, 1280.
73. Ostern, Baranowski et Reis. — *C. R. Soc. Biol.*, 1935, **118**, 1414.
74. Parnas (J. K.). — *Rapport au V^e^ Congrès de Ch. Biol. Bull. de la Soc. de Ch. Biol.*, 1936, **18**, 53-95.
75. Parnas (J. K.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1939, **21**, 1059.
76. Parnas (J. K.), Ostern et Mann. — *Bioch. Zts.*, 1934, **272**, 64 ; Ibid., 1934, **275**, 74.
77. Pavy. — *Physiology of the carbohydrates.* Londres, 1894.
78. Pavy et Siau. — *Journ. of Physiol.*, 1901, **26**, 287.
79. Penet (G.). — *Thèse de Doct. en pharmacie*, Faculté de Pharmacie, 1940.
80. Pichardt. — *Physiol. Chem.*, 1892, **17**, 217.
81. Portier. — *C. R. Soc. Biol.*, 1903, **55**, 191.
82. Raymond et Blanco (J. C.). — *J. of Biol. Chem.*, **79**, 649.
83. Rimington (C.). — *An review. of Bioch.*, 1936, **5**, 117-158.
84. Roche (J.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, **12**, 636-655.
85. Roche (J.) et Dumazert (C.). — *Ann. Inst. Oceano*, 1939, **20** f 3, 87-95.
86. Roche (A.) et Roche (J.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1927, **11**, 549-599.
87. Rona (P.) et Döblin. — *Bioch. Zeits.*, 1911, **32**, 489.
Rona (P.) et Arnheim. — *Bioch. Zeits.*, 1913, **48**, 35.
88. Rona (P.) et Iwasaki. — *Bioch. Zeits.*, 1927, **184**, 318-40.
89. Slosse. — *Archives intern. de physiol.*, 1912, **2**, 154.
90. Sörensen (M.). — *C. R. Laborat. de Carlsberg.* Série chimique. 1938, **22**, 487.
91. Thomas (J.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1931, **13**, 377-94.

92. Thomas (J.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1932, **14**, 1280-89.
93. Velluz (L.). — *Chimie et Immunité. VI^e^ Congrès de Chim. Biol.*, 1937, 1 vol., Declume édit., à Lon-le-Saunier.
94. Warburg (O.) et Christian (W.). — *Bioch. Zeits.*, 1939, **301**, 201.
95. Warburg (O.) et Christian (W.). — *Bioch. Zeits.*, 1935, **279**, 143-4.
96. Winter (L. B.). — *Biochem. Journ.*, 1930, **24**, 851.
97. Yosida. — *Z. ges. exp. Med.*, 1928, **63**, 331, *cité d'après* [**93**].

TABLE DES MATIÈRES.

Pages.

Introduction 9

I. — Les glucides du sang. Nature et rôle.... 10

A. Sucre libre 10
B. Sucres combinés 13

II. — La glycolyse 19

A. La fermentation alcoolique..... 19
B. La fermentation lactique..... 21
a) Glycolyse musculaire..... 22
b) Glycolyse sanguine..... 28

III. — Objet du travail 32

Recherches personnelles 35

A. Techniques 35

a) Dosage des glucides..... 35
1) Glucide libre..... 35
2) Glucides combinés..... 36

b) Dosage de l'alcool..... 38
1) Principe de la méthode..... 39
2) Application à la fermentation de solutions pures de glucose..... 41
3) Amélioration du rendement..... 44

c) Dosage de l'acide lactique..... 46
1) Principe du dosage..... 46
2) Application au dosage de l'acide lactique dans le sang..... 51

B. Résultats expérimentaux..... 52

a) Fermentation de sang total normal..... 52
1) Disparition du glucose sanguin dans le sang total additionné de levure.. 52

2) Formation d'alcool et d'acide lactique en présence de levure..... 53
3) Dosage de l'alcool et de l'acide lactique dans les hémolysats en présence de levure 57
b) Fermentation de sangs hyperglycémiques. 58
c) Comportement des glucides combinés au cours de la fermentation du sang..... 63

C. Discussion des résultats et conclusions..... 68

I. — Déviation de la fermentation alcoolique par les hématies..... 68

II. — Rôle de l'hyperglycémie dans les troubles du métabolisme glucidique au cours du diabète..... 70

III. — Comportement des glucides combinés au cours de la fermentation alcoolique du sang total..... 71

D. Résumé des conclusions..... 73

Bibliographie 75

Declume, imprimeur, Lons-le-Saunier (31.2160). — Décembre 1943.
Dépôt légal 4e trimestre 1943 — N° 3539.